

**EINFLUSS VERSCHIEDENER ZUSÄTZE
UND BEHANDLUNGSVERFAHREN
AUF DIE UMRÖTUNG VON BLUT UND
BLUTWURST-ERZEUGNISSEN**

Abraham Bula Makodi

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs der
Universität München - Fachbereich Tiermedizin

Vorstände: Prof. Dr. Dr.h.c. L. Kotter und Prof. Dr. G. Terplan

EINFLUSS VERSCHIEDENER ZUSÄTZE UND BEHANDLUNGSVERFAHREN
AUF DIE UMRÖTUNG VON BLUT UND BLUTWURST-ERZEUGNISSEN



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Abraham Bula Makodi

aus

Kibweta/Zaire

München 1975



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. L. Kotter
Korreferent: Prof. Dr. H. Erbersdobler

Tag der Promotion: 18. Juli 1975

Land	Stadt	Land	Stadt
1. 1	Land	1. 1	Stadt
1. 2	Land	1. 2	Stadt
1. 3	Land	1. 3	Stadt
1. 4	Land	1. 4	Stadt
1. 5	Land	1. 5	Stadt
1. 6	Land	1. 6	Stadt
1. 7	Land	1. 7	Stadt
1. 8	Land	1. 8	Stadt
1. 9	Land	1. 9	Stadt
1. 10	Land	1. 10	Stadt
1. 11	Land	1. 11	Stadt
1. 12	Land	1. 12	Stadt
1. 13	Land	1. 13	Stadt
1. 14	Land	1. 14	Stadt
1. 15	Land	1. 15	Stadt
1. 16	Land	1. 16	Stadt
1. 17	Land	1. 17	Stadt
1. 18	Land	1. 18	Stadt
1. 19	Land	1. 19	Stadt
1. 20	Land	1. 20	Stadt
1. 21	Land	1. 21	Stadt
1. 22	Land	1. 22	Stadt
1. 23	Land	1. 23	Stadt
1. 24	Land	1. 24	Stadt
1. 25	Land	1. 25	Stadt
1. 26	Land	1. 26	Stadt
1. 27	Land	1. 27	Stadt
1. 28	Land	1. 28	Stadt
1. 29	Land	1. 29	Stadt
1. 30	Land	1. 30	Stadt
1. 31	Land	1. 31	Stadt
1. 32	Land	1. 32	Stadt
1. 33	Land	1. 33	Stadt
1. 34	Land	1. 34	Stadt
1. 35	Land	1. 35	Stadt
1. 36	Land	1. 36	Stadt
1. 37	Land	1. 37	Stadt
1. 38	Land	1. 38	Stadt
1. 39	Land	1. 39	Stadt
1. 40	Land	1. 40	Stadt
1. 41	Land	1. 41	Stadt
1. 42	Land	1. 42	Stadt
1. 43	Land	1. 43	Stadt
1. 44	Land	1. 44	Stadt
1. 45	Land	1. 45	Stadt
1. 46	Land	1. 46	Stadt
1. 47	Land	1. 47	Stadt
1. 48	Land	1. 48	Stadt
1. 49	Land	1. 49	Stadt
1. 50	Land	1. 50	Stadt
1. 51	Land	1. 51	Stadt
1. 52	Land	1. 52	Stadt
1. 53	Land	1. 53	Stadt
1. 54	Land	1. 54	Stadt
1. 55	Land	1. 55	Stadt
1. 56	Land	1. 56	Stadt
1. 57	Land	1. 57	Stadt
1. 58	Land	1. 58	Stadt
1. 59	Land	1. 59	Stadt
1. 60	Land	1. 60	Stadt
1. 61	Land	1. 61	Stadt
1. 62	Land	1. 62	Stadt
1. 63	Land	1. 63	Stadt
1. 64	Land	1. 64	Stadt
1. 65	Land	1. 65	Stadt
1. 66	Land	1. 66	Stadt
1. 67	Land	1. 67	Stadt
1. 68	Land	1. 68	Stadt
1. 69	Land	1. 69	Stadt
1. 70	Land	1. 70	Stadt
1. 71	Land	1. 71	Stadt
1. 72	Land	1. 72	Stadt
1. 73	Land	1. 73	Stadt
1. 74	Land	1. 74	Stadt
1. 75	Land	1. 75	Stadt
1. 76	Land	1. 76	Stadt
1. 77	Land	1. 77	Stadt
1. 78	Land	1. 78	Stadt
1. 79	Land	1. 79	Stadt
1. 80	Land	1. 80	Stadt
1. 81	Land	1. 81	Stadt
1. 82	Land	1. 82	Stadt
1. 83	Land	1. 83	Stadt
1. 84	Land	1. 84	Stadt
1. 85	Land	1. 85	Stadt
1. 86	Land	1. 86	Stadt
1. 87	Land	1. 87	Stadt
1. 88	Land	1. 88	Stadt
1. 89	Land	1. 89	Stadt
1. 90	Land	1. 90	Stadt
1. 91	Land	1. 91	Stadt
1. 92	Land	1. 92	Stadt
1. 93	Land	1. 93	Stadt
1. 94	Land	1. 94	Stadt
1. 95	Land	1. 95	Stadt
1. 96	Land	1. 96	Stadt
1. 97	Land	1. 97	Stadt
1. 98	Land	1. 98	Stadt
1. 99	Land	1. 99	Stadt
1. 100	Land	1. 100	Stadt

Meinem Vater gewidmet

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATUR	2
1.	Blut	2
2.	Hämoglobin	2
2.1	Darstellung von Hämoglobin	2
2.2	Reaktion des Hämoglobins	4
2.2.1	Reaktion des Hämoglobins mit Sauerstoff	4
2.2.2	Reaktion des Hämoglobins mit Kohlenmonoxid	4
2.2.3	Reaktion des Hämoglobins mit Nitrit	5
2.2.4	Reaktion des Hämoglobins mit Kohlendioxid	5
2.3	Verhältnisse zwischen Hämoglobin und Myoglobin	5
3.	Umrötung	6
3.1	Chemie der Pökelung	6
3.1.1	Chemische Vorgänge	6
3.1.1.1	Umsetzung von Hämoglobin und Nitrit	6
3.1.1.2	Sauerstoffeinfluß	8
3.1.1.3	Hitze einwirkung	9
3.1.2	Bakterielle Vorgänge	11
3.1.2.1	Nitrat	11
3.2	Einfluß innerer und äußerer Versuchsbedingungen	13
3.2.1	Konzentration an Hämoglobin	13
3.2.2	Konzentration an Methämoglobin vor Versuchsbeginn	13
3.2.3	Konzentration an Natriumnitrit	13
3.2.4	Bedeutung des pH-Wertes	14
3.2.5	Temperatur	14
3.3	Hämochromogenbildner	15
3.3.1	Nitrit	15
3.3.2	Nitrat	15
3.3.3	Natriumdithionit	16
3.3.4	Ascorbinsäure	16

	Seite
3.3.5	Nicotinsäure und Nicotinsäureamid 17
3.3.6	Glucono-delta-Lacton (GdL) 17
3.3.7	Cystein 18
3.3.8	Kohlenhydrate 18
3.3.9	Metallionen 19
3.3.10	Kochsalz 19
3.3.11	Enzyme 20
4.	Veränderung der Farbe von Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen 20
4.1	Fleisch 20
4.2	Umgerötete Fleisch-Erzeugnisse 21
4.2.1	Nitrit-bedingte Verfärbung 21
4.2.2	Bakteriell bedingte Verfärbung 21
4.2.3	Luft- und Lichteinwirkung 22
5.	Verbesserung von Farbe und Farbhaltung bei Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen 23
5.1	Anwendung von Kohlenmonoxid 23
5.2	Anwendung verschiedener Gasgemische 23
5.3	Anwendung von Hämoglobin 25
5.4	Anwendung von Metallionen 25
6.	Toxikologie der Pökelstoffe 25
6.1	Nitrat- und Nitritvergiftungen 25
6.2	Nitrosamine 26
6.2.1	Kanzerogene Stoffe 26
6.2.2	Vorkommen von Aminen 26
6.2.3	Bildung von Nitrosaminen 27
6.2.4	Kanzerogene Wirkung von Nitrosaminen 28
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN 31
7.	Material und Methoden 31
7.1	Hämoglobinbestimmung 31
7.2	Bestimmung der prozentualen Umrötung 31
7.3	Nitrit- und Nitratbestimmung 32
7.4	Versuchsreihe I 34
7.4.1	Einfluß von Temperatur, Lagerungszeit, Sauerstoffgehalt und Umrötungshilfsstoffen auf Pökelfarbstoffbildung, pH-Wert sowie Nitrit- und Nitratgehalt in Blut 34

	Seite
7.4.2	Ergebnisse 36
7.5	Versuchsreihe II 37
7.5.1	Einfluß von Temperatur, Lagerungszeit und Umrötungshilfsstoffen auf die Bildung von Pökelfarbstoff in Blut ohne Nitritpökelsalzzusatz 37
7.5.2	Ergebnisse 42
7.6	Versuchsreihe III 42
7.6.1	Einfluß von pH-Wert und verschiedenen Umrötungshilfsstoffen ohne Nitritpökelsalz nach Erhitzen auf 80 °C 42
7.6.2	Ergebnisse 46
7.7	Versuchsreihe IV 46
7.7.1	Einfluß von pH-Wert und Cystein auf Bildung und Stabilität von Pökelfarbstoff in Blut mit Nitritpökelsalz- bzw. Kochsalzzusatz nach Erhitzung auf 80 °C 46
7.7.2	Ergebnisse 48
7.8	Versuchsreihe V 48
7.8.1	Umrötung und Farbstabilität einer Blut-Schwartenmasse in Abhängigkeit verschiedener Zusätze und Lagerungszeiten 48
7.8.2	Ergebnisse 49
IV.	DISKUSSION 52
V.	ZUSAMMENFASSUNG 55
VI.	LITERATURVERZEICHNIS 59

I. EINLEITUNG

Über den Reaktionsablauf sowie die Beeinflussung der Umsetzung von Myoglobin und Nitrit liegen umfangreiche Untersuchungen vor. Die Vorgänge bei der Bildung des Pökelfarbstoffes in Blut sind dagegen noch wenig studiert. Trotz der dem Muskelfarbstoff identischen Hämgruppe des Hämoglobins und der ähnlichen räumlichen Struktur der Moleküle können die Umrötungsprozesse im Muskelfleisch infolge des wesentlich höheren Pigmentgehaltes in Blut und der unterschiedlichen Enzymsysteme nicht ohne weiteres aufeinander übertragen werden. Modelluntersuchungen von MÖHLER und BAUMANN (71) zeigten, daß bei der optimalen, jedoch aus rechtlichen und toxikologischen Gesichtspunkten irrealen Zusatzmenge von 150 mg Natriumnitrit zu 100 g Rinderblut die höchste prozentuale Umrötung zu erreichen war, die durch Zugabe von 400 mg Natriumascorbat zu 100 g Blut auf 100 % gesteigert werden konnte. Praktische Untersuchungen (97, 123) ergaben andererseits, daß der Zusatz von Natriumascorbat die Umrötung von Blut eher verschlechtert.

Ziel vorliegender Arbeit war daher, verschiedene Hilfsstoffe bzw. Hilfsstoffkombinationen und Behandlungsverfahren bei praxisüblichem Nitritzusatz auf ihre umrötungssteigernde Wirkung zu prüfen sowie den optimalen Verarbeitungszeitpunkt zu finden. Weiterhin interessierte, inwieweit auf Nitrit, das u.U. zur Bildung von kanzerogenen Nitrosaminen führt, verzichtet werden kann.

II. LITERATUR

1. Blut

Blut ist ein flüssiges Gewebe des menschlichen und tierischen Organismus und dient dem Transport von Sauerstoff aus der Lunge und der Nahrungsstoffe aus dem Darm in die einzelnen Gewebe. Es überführt Schlackenstoffe sowie Kohlendioxid und harnpflichtige Substanzen aus den Geweben in die Ausscheidungsorgane (21, 85, 98).

Blut besteht aus dem eiweißreichen Plasma, aus roten Blutkörperchen (Erythrozyten), aus weißen Blutkörperchen (Leukozyten) sowie aus Blutplättchen (Thrombozyten) (21). Der Anteil des Blutes am Körpergewicht beträgt beim Rind 5,5 %, beim Pferd 10 % und beim Schwein 3,0 % (31). Neben 80,5 % Wasser enthält Rinderblut 17,8 % Eiweiß, 0,13 % Fett, 0,065 % Kohlenhydrate und 0,85 % Mineralstoffe. Schweineblut setzt sich aus 79,2 % Wasser, 18,5 % Eiweiß, 0,11 % Fett, 0,06 % Kohlenhydraten und 0,97 % Mineralstoffen zusammen (110). Rote Blutkörperchen enthalten hochwertiges Eiweiß, in dem vor allem reichliche Mengen an essentiellen Aminosäuren (Valin 11 %, Leucin 14,9 %, Threonin 6 %, Phenylalanin 9,6 %, Tryptophan 2 %, Lysin 10,6 %) vorhanden sind (99).

2. Hämoglobin

2.1 Darstellung von Hämoglobin

Hämoglobin ist ein Chromoprotein, das sich aus 96 % Globin und 4 % Häm, der farbgebenden prosthetischen Gruppe, zusammensetzt (21, 32, 47). Reines Hämoglobin enthält 54,6 % Kohlenstoff, 7,2 % Wasserstoff, 20,9 % Sauerstoff, 16,4 % Stickstoff, 0,6 % Schwefel und 0,34 % Eisen (19). Die de Furier-Synthese ergibt, daß das Hämoglobin aus 4 Polypeptidketten (2 α -Ketten und 2 β -Ketten) besteht (80)!

Jede Kette enthält eine Hämgruppe, so daß auf das ganze Hämoglobin-Molekül vier Häm-Gruppen kommen. Die Verbindung der Häm-

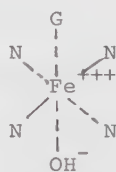
Gruppe mit dem Globin erfolgt wahrscheinlich über Histidin. Das Grundgerüst von Häm ist das Protoporphyrin aus vier Pyrrolringen der Pyrrolaldehydmoleküle, die durch vier Methinbrücken $-CH=$ zu einem Ring vereinigt sind. Jedes Häm enthält ein Eisenatom (80, 98). Durch Oxidation wird Häm in Hämatin übergeführt und durch Einwirkung von Salzsäure in Hämin (59). Die Struktur des Hämoglobins und seiner Derivate (Oxihämoglobin, Methämoglobin) wird nachfolgend dargestellt:



Hämoglobin



Oxihämoglobin



Hämiglobin (32,98,105)

Hämoglobin bildet den Hauptbestandteil der roten Blutkörperchen (beim Menschen 94,3 % der Trockensubstanz) (32). Der Hämoglobingehalt des Blutes einzelner Tierarten unterliegt erheblichen Schwankungen, die vom Alter, Geschlecht und von der Fütterung abhängig sind (98).

Tabelle 1:

Beziehungen zwischen Geschlecht, Alter und Erythrozytenzahl
(Mill. in mm^3)

Alter	Männliche Tiere	Weibliche Tiere
Ziege bis 1 Jahr alt	19,1	17,4
Ziege 1 - 2 Jahre alt	17,7	16,4
Ziege 2 - 4 Jahre alt	17,4	16,1
Ziege 4 Jahre alt	13,8	14,4

Männliche Tiere haben demnach, wie die Tabelle 1 zeigt, höhere Werte als weibliche; im Alter geht die Erythrozytenzahl zurück.

Im menschlichen Organismus können verschiedene Hämoglobine vorkommen, die sich im Aminosäure-Aufbau ihrer Globinkomponente unterscheiden (47), und zwar das normale Hämoglobin A, das

Fötal-Hämoglobin oder Hämoglobin F, das Sichelzellenhämoglobin bzw. Hämoglobin S (98, 100).

Die Hämoglobine einzelner Tierarten unterscheiden sich ebenfalls in der Aminosäurezusammensetzung und Aminosäuresequenz, wobei die Unterschiede die schwefelhaltigen Aminosäuren sowie den Gehalt an Leucin, Isoleucin, Valin und Alanin betreffen (32, 98).

2.2 Reaktion des Hämoglobins

2.2.1 Reaktion des Hämoglobins mit Sauerstoff

Das Blut besitzt ein starkes Sauerstoffbindungsvermögen. Das frische Blut kann z.B. 200 ml O_2 pro Liter aufnehmen (32). Ein Molekül Hämoglobin vermag maximal 4 Moleküle Sauerstoff reversibel zu binden (98). Das sauerstoffreiche Blut, auch oxigeniertes Blut genannt, ist hellrot, während das desoxygenierte, sauerstoffarme Blut dunkelrot aussieht (98). Die hohe Sauerstoffbindungskapazität ist auf eine lockere, leicht dissoziablen Bindung des Sauerstoffmoleküls an das zentrale Eisenatom des Häms zurückzuführen (32, 105). Das Eisen des so entstandenen Oxihämoglobins bleibt zweiwertig (98). Das Verhältnis HbO_2/Hb ist vom Sauerstoff-Partialdruck und vom pH-Wert abhängig (32, 47). In sauerstoffarmen Geweben wird O_2 wahrscheinlich gegen H_2O abgegeben (47, 98).

2.2.2 Reaktion des Hämoglobins mit Kohlenmonoxid

CO wird, ähnlich wie das Sauerstoffmolekül, an die sechste Koordinationsstelle des Eisens gebunden (21, 47, 59, 98). Dann gehen Hämoglobin und Oxihämoglobin in Karboxihämoglobin (Kohlenoxidhämoglobin = COHb) über (59). Jedoch ist die Affinität des Hämoglobins zum CO etwa 300 mal größer als zum O_2 (32). So wird Sauerstoff bei niedrigen CO-Konzentrationen allmählich verdrängt und es tritt Erstickung des Gewebes infolge des Sauerstoffmangels ein (32, 98).

2.2.3 Reaktion des Hämoglobins mit Nitrit

Bei der Aufnahme von Nitrit entsteht Stickoxid, das sich mit Hämoglobin zu dem für den Sauerstofftransport ungeeigneten Stickoxidhämoglobin verbindet. Auch kann sich infolge Oxidation Methämoglobin bilden, wobei gleichzeitig Nitrit zu Nitrat oxidiert wird. Methämoglobin vermag ebenfalls keinen Sauerstoff zu binden und ist daher für den Sauerstofftransport ungeeignet. Dieser Zustand wird als Methämoglobinaemie bezeichnet (7, 41, 43, 45, 90, 98).

2.2.4 Reaktion des Hämoglobins mit Kohlendioxid

Hämoglobin vermag CO_2 locker zu binden und es von Geweben zur Lunge, wo der Gasaustausch Kohlendioxid gegen Sauerstoff stattfindet, zu transportieren (98). Hämoglobin übt im Blut eine lebensnotwendige Pufferfunktion beim Kohlensäuretransport aus. Insbesondere sind die Kaliumsalze des Hämoglobins und des Oxihämoglobins sowie die Hydrogencarbonate wesentliche Puffer des Blutes. Die an Eiweiß gebundenen Alkaliionen dienen als Hydrogencarbonate dem Kohlensäuretransport. In der Lunge zerlegt Oxihämoglobin das Hydrogencarbonat und bindet aufgrund seiner Acidität Alkaliionen. Die Wasserstoffionen vereinigen sich mit Hydrogencarbonationen zu Kohlensäure, die ihrerseits in CO_2 und H_2O zerfällt. Im Gewebe geht Oxihämoglobin in das weniger saure Hämoglobin über, gibt Alkaliionen frei und bindet Wasserstoffionen (21).

2.3 Verhältnisse zwischen Hämoglobin (Hb) und Myoglobin (Mb)

Hb ist ein Blutfarbstoff, besitzt 4 Häm und hat ein Molekulargewicht (MG) von 68000, während Mb nur ein Häm und ein MG von 17000 aufweist (100). Die Affinität des Mb zu Sauerstoff ist etwa sechsmal so groß wie die des Hb, so daß hier eine lokale Sauerstoffreserve des Muskels für Energieleistungen gegeben ist (98). Für CO hat Mb eine geringere Affinität als Hb. Hb besitzt die SH-haltigen Aminosäuren Cystein und Cystin, die dem Mb fehlen (47). Der isoelektrische Punkt von Mb liegt bei 7,0, dagegen der von Hb bei 6,8 (105).

In Tabelle 2 hat MÖHLER (71) die Inhaltsstoffe von Blut und Fleisch vom Rind nach verschiedenen Autorenangaben (2, 21, 59, 101) zusammengestellt.

Tabelle 2:

<u>Bestandteil</u>	<u>Gehalt in</u>	
	<u>100 g Blut</u>	<u>100 g Fleisch</u>
Wasser	80 g	74 g
Protein	17 g	22 g
Eisen gesamt	38 mg	2,5 mg
Pigment	12 g Hb	0,27-0,35 g Mb
Schwefelgehalt des Proteins	110-120 mg	220-270 mg
Mineralstoffe	0,9 g	1,0 g

3. Umrötung

3.1 Chemie der Pökellung

3.1.1 Chemische Vorgänge

3.1.1.1 Umsetzung von Hämoglobin (Hb) und Nitrit (NO₂)

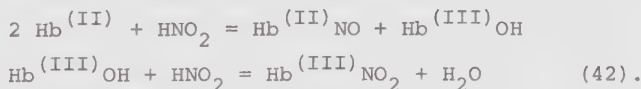
Die Farbe von rohem Blut wird vom dunkelroten Hämoglobin, vom hellroten Oxihämoglobin und vom braunen Methämoglobin bestimmt. Diese 3 Pigmente sind bei der Erhitzung labil. Erhitzt man sie bei Anwesenheit von Nitrit und bei bestimmten pH-Werten, so bildet sich unter Denaturierung des Proteinanteils NO-Hämo-chromogen. Dieser Vorgang wird Umrötung genannt. JUNG und REMMER (42) führten die Umsetzung zwischen Hb und NO₂ in vitro bei pH 6,7 und einer Temperatur von 40 °C während 12-stündiger Umsetzungsdauer durch. Die Bestimmung des Hämipigments erfolgte nach der Zyanidmethode von HAVEMANN (34) und EVELYN (17). Sie fanden, daß 1 Mol Nitrit 2 Mol Hb zur Umsetzung benötigt.



Das gebildete Hämoglobin wurde aber laufend zu Hämoglobin reduziert. Die Reaktionsgeschwindigkeit hing weitgehend von der

Hämoglobinkonzentration im Blut ab. Die Umsetzung verlief langsam und zeigte einen s-förmigen Ablauf. SNYDER (108) bestätigte diese Reaktion mit Mb mittels Reflexions-Spektralphotometrie. Die Umsetzung, bei der auch Nitrit zu Nitrat oxidiert wurde, verlief autokatalytisch (7). Es ist nicht bekannt, welche Vorgänge sich im einzelnen bei der Nitritoxidation abspielen. Eine besondere Bedeutung hat die Sauerstoffdissoziation, weil ein Teil des molekular an der Blutfarbstoff gebundenen Sauerstoffs erforderlich ist, damit der Oxidationsprozeß überhaupt in der oben angegebenen Weise ablaufen kann. Mit der Feststellung, daß bei der Autokatalyse eine langsame bimolekulare Reaktion zwischen Hämoglobin und salpetriger Säure voraus und parallel läuft, wird verständlich, daß die Umsetzung spontan beginnt, falls bei dieser Reaktion auch ein Autokatalysator gebildet wird. Bei der Umsetzung von Nitrit und Oxihämoglobin sollte je Val neugebildetes Methämoglobin ein Wasserstoffion verbraucht werden. Nach der Hypothese von JUNG und KAHL (45) erfolgt zunächst die Bildung des NO^+ bzw. auch die Bindung des freien Nitrits oder der salpetrigen Säure an das zweiwertige Hämoglobin-Eisen, als weiterer Reaktionsschritt folgt der Ladungsaustausch zwischen Fe^+ und NO^+ .

In der Folgereaktion setzt sich NO mit Sauerstoff und Wasser zu Salpetersäure und salpetriger Säure um, wobei je NO wieder ein H^+ verfügbar wird. Das überschüssige Nitrit-Ion kann sich schließlich mit dem ionisierten Methämoglobin zu Methämoglobinnitrit zusammenlagern.



Bei dieser Reaktionsphase wird kein H^+ -Ion bewegt, da die Umsetzung formal einem einfachen Ladungsaustausch entspricht. JUNG und KAHL (45) wiesen experimentell nach, daß bei der Ligandenbindung an Methämoglobin keine pH-Veränderung eintritt. Bei einem großen Nitritüberschuß erhält man ein Gemisch von Hämoglobin, Hämoglobinnitrit und NO-Hämoglobin oder auch nur Hämoglobinnitrit und NO-Hämoglobin (42).

JUNG und KAHL (44) prüften die Hypothese, ob Methämoglobin als Katalysator der Umsetzung in Frage kommt, indem sie das $\text{Hb}^{(\text{III})}$ durch Fluoridzusatz absicherten, so daß die OH^- -bindende Valenz des Fe im $\text{Hb}^{(\text{III})}$ durch einen Komplexbpartner höherer Affinität blockiert wurde. Da die Reaktion trotzdem ungehindert verlief, ist eine autokatalytische Wirkung von $\text{Hb}^{(\text{III})}$ auszuschließen.

3.1.1.2 Sauerstoffeinfluß

Unter Sauerstoffausschluß lagert sich NO an Hämoglobin, das gebildete $\text{Hb}^{(\text{III})}\text{NO}$ ist instabil und geht langsam in $\text{Hb}^{(\text{II})}\text{NO}$ über. Nach JUNG und REMMER (42) werden bei Sauerstoffausschluß durch 1 Mol Natriumnitrit 2 Val Hb in 1 Val $\text{Hb}^{(\text{III})}$ und 1 Val $\text{Hb}^{(\text{II})}\text{NO}$ wie nachstehend umgesetzt:



ROY und Mitarbeiter (90) wiesen eine solche NO-Hämoglobinbildung in geringem Umfang auch in O_2 -Gegenwart nach. Sie berichteten, daß die Reaktion langsam verlief, während nach JÄNIG und JUNG (41) in O_2 -Anwesenheit die Reaktion schnell verlaufen und das gesamte Hb in Methämoglobin übergehen soll. Versuche von JUNG und Mitarbeitern (43) über Methämoglobin- und NO-Hämoglobinbildung, wobei letztere mittels Elektronenspinresonanz nachgewiesen wurde, brachten folgende Ergebnisse: In vitro erfolgt die Methämoglobinbildung rasch und klingt dann allmählich ab, während NO-Hämoglobin sehr schnell gebildet wird und ebenso schnell abnimmt, weil diese Verbindung nicht stabil ist und langsam in NO-Methämoglobin übergeht. In Gegenwart von O_2 verlangsamt sich die NO-Hämoglobinbildung infolge der Oxidation von NO wesentlich.

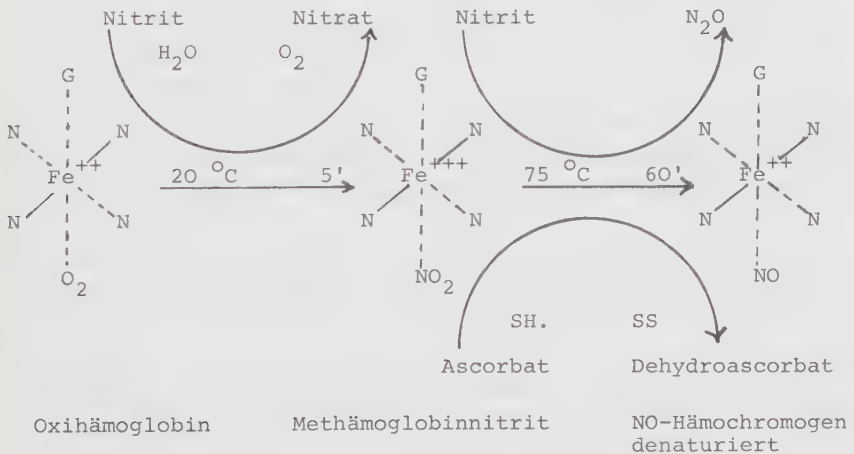
3.1.1.3 Hemmung der Autokatalyse

Verschiedene Stoffe, insbesondere Reduktanten, hemmen die Umsetzung zwischen Hb und Nitrit wesentlich. Dies wurde sowohl von ROY und Mitarbeitern (90) als auch von JÄNIG und JUNG (41) unter Verwendung von Phenol, Dioxinaphthalin, Hydrochinon, Pyrogallol, Resorcin, Katecholaminen (Noradrenalin, Adrenalin, Isoprenalin) und Hexazyanoferat festgestellt. Nach FOX und

Mitarbeitern (25) dagegen soll die Zugabe von Reduktanten die Farbstoffbildung vor allem durch Verkürzung der Verzögerungsphase beschleunigen. Starke Hemmwirkung besitzen Ascorbinsäure, Ferrozyanid und Cystein, während andere Thioverbindungen, darunter Glutathion und Thioglykolat sehr schwach hemmen (90). Nach Ansicht von BETKE und Mitarbeitern (7) verzögert Ascorbinsäure die Oxidation und verlängert den Reaktionsverlauf. Ausschlaggebend ist daher der Zeitpunkt des Ascorbinsäure-Zusatzes. Wurde Ascorbinsäure zu einer bereits angelaufenen Oxidation gegeben, resultierte nur eine geringe Hemmung. Sie ist ebenfalls gering, wenn Ascorbinsäure vor Auslösung der Oxidation der NaNO_2 -Lösung zugesetzt wurde.

3.1.1.4 Hitzeeinwirkung

Nach bisherigen Ergebnissen lassen sich die chemischen Reaktionen des Blutfarbstoffs mit Nitrit wie folgt ableiten:

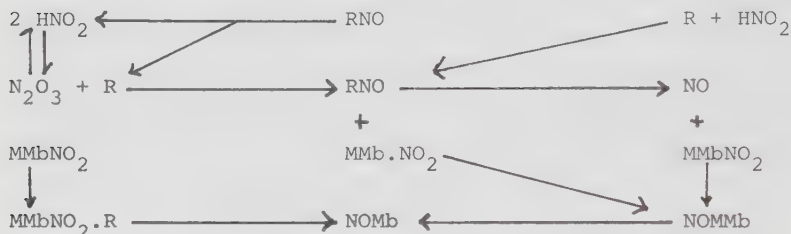


(42, 68, 71).

Diese Reaktion soll für die Pökelfarbstoffbildung im Blut eine entscheidende Rolle spielen, wobei Natriumnitrit bei Zimmertemperatur innerhalb 5 Minuten Oxihämoglobin in Methämoglobin nitrit umsetzt (68). In der Lösung sind ein Gemisch von Hämoglobin, Hämoglobin nitrit, NO-Hämoglobin, Hämoglobin und NO-Hämo-

globin vorhanden (42). Für den Reaktionsablauf in saurer Lösung ist die Freisetzung von NO Voraussetzung, das an die 6. Valenz des Eisenatoms gebunden wird (42, 45).

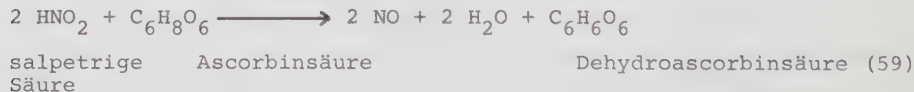
Im folgenden Schema wird zum Vergleich der Reaktionsverlauf bei der NO-Myoglobinbildung nach FOX und Mitarbeitern (26) dargestellt.



Abkürzungen:

RNO	= Stickoxireduktant	
HNO ₂	= salpetrige Säure	
MMbNO ₂	= Metmyoglobinnitrat	(Fe ⁺⁺⁺)
NOMMb	= Stickoxidmetmyoglobin	(Fe ⁺⁺⁺)
NOMb	= Stickoxidmyoglobin	(Fe ⁺⁺)

Salpetrige Säure reagiert mit dem Reduktanten (R) und bildet RNO, welches weiterreagieren kann und NO freisetzt oder R + HNO₂ können weiterreagieren und NO freigeben.



Im Verlauf der Reaktion konnten sie die NOMMb-Bildung spektral-photometrisch verfolgen, dessen Peak bei 532 nm lag, während NOMb seinen Peak bei 547,5 nm hatte. Es stellt sich jedoch die Frage, ob der Reaktionsverlauf bei Myoglobin auf Hämoglobin übertragen werden kann (26). Dies wird von HAMM (32) aufgrund der identischen Hämgruppe und des analogen räumlichen Baues der Moleküle bejaht. REITH und SZAKALY (86) dagegen vertreten die Auffassung, daß ohne vorherige experimentelle Bestätigung die Ergebnisse von Myoglobin nicht auf Hämoglobin übertragen werden sollten.

Übereinstimmend sind mehrere Autoren (9, 25, 26, 30, 52, 64, 68, 71) der Ansicht, daß die Reduktion von Metmyoglobinnitrit und von NO-Metmyoglobin zu NO-Myoglobin, welches durch Hitzeeinwirkung in Stickoxidmyochromogen übergeht, entscheidend ist. Höhere Temperaturen (75 °C) fördern die Reaktion (26, 112). So erhöht sich der Anteil an NO-Myoglobin in ungekochtem Bacon von 30 - 40 % nach Kalträucherung auf 50 % und nach dem Erhitzen auf 85 - 90 % (40).

Bei der Pökellung von Blut liegt nach MÖHLER (71) die Umrötung im Durchschnitt bei 64 %. An dieser Reaktion sind sehr wahrscheinlich SH-Gruppen beteiligt (31, 71). Die SH-Gruppen, die beim Erhitzen durch Eiweißdenaturierung frei werden, sollen an der Reduktion von NOMHb zu NOHb beteiligt sein (71). Andere Autoren (51, 64) sind der Meinung, daß bei diesem Schritt Ascorbinsäure und andere Enzymsysteme mitwirken könnten. Sind keine reduzierenden Substanzen vorhanden, kommt es durch Nitrit zur Spaltung des Porphyringrings. Dieser Vorgang wird als "Nitritbrand" bezeichnet (31).

Bei der hitzekatalysierten Umrötung hält MÖHLER (69) eine Enzymwirkung für wahrscheinlich. FOX und Mitarbeiter (25) halten es dagegen für unwahrscheinlich, daß bei Erhitzung auf 80 °C die endogenen reduzierenden Enzymsysteme denaturiert sind. Es würde daher, da keine weitere Belastung der reduzierenden Systeme vorliegt, auch bei Einwirkung dieser Temperatur eine weitere Bildung von Pökelfarbstoff erfolgen. Studien von NIINIVAARA (72) ergaben, daß auch bei Rohwurst hauptsächlich NO-Myochromogen vorliegt.

3.1.2 Bakterielle Vorgänge

3.1.2.1 Nitrat

Neben chemischen Reaktionen spielen natürlich auch bakterielle Vorgänge beim Pökeln eine erhebliche Rolle. KOTTER (53) hat in seinen Studien über das Pökeln die Unentbehrlichkeit mancher Bakterien beim Pökelgeschehen erwähnt. Besondere Bedeutung haben *Micrococcus nitrificans* und die *Enterobacteriaceae*, vor allem Vertreter der Coli-Gruppe wie *Escherichia*, *Aerobacter* und *Klebsiella*, die Nitrat-Reduktase enthalten (23).

NIINIVAARA (72) führte umfangreiche Untersuchungen über die Verwendung von Bakterienreinkulturen in der Rohwurstherstellung durch. Die Bakterienkulturen wirkten hemmend auf die Vermehrung unerwünschter Bakterien und verhinderten so das Verderben der Wurst. Dieser Effekt beruht zum Teil auf ihrem Vermögen, aus Nitrat Hydroxylamin zu bilden. Hydroxylamin wirkt nur im sauren pH-Bereich und nur unter reduzierenden Bedingungen bakterizid. Im alkalischen Bereich verhält es sich wie eine Aminosäure, im sauren dagegen wie eine Ammoniumbase und daher oxidierend (116). Diese Ergebnisse wurde von EDDY und Mitarbeitern (13) bei Bacon bestätigt. In weiteren Untersuchungen stellen NIINIVAARA und Mitarbeiter (73) fest, daß *Aerobacter aerogenes* sowie verschiedene *Bacillus*-arten, insbesondere Mikrokokken, Nitrat zu Nitrit reduzieren, daß Mikrokokken und Laktobazillen Glukose und Laktose zu Säure umsetzen und dadurch ein günstiger pH-Bereich für die Umrötung erreicht wird. *Achromobacteriaceae* sowie *Aerobacter aerogenes* sind an der Bildung des Pökelaromas beteiligt und einige Mikrokokken sowie *Bacillus*-arten besitzen Gelatineverflüssigungsvermögen. Das fertige Produkt sollte ausschließlich Laktobazillen, die weder Gelatine verflüssigen noch Gas bilden, enthalten (73, 74).

Die Anwendung von Salpeter war von alters her bei der Herstellung von Fleisch-Erzeugnissen üblich (52). Bei der Salpeterpökung ist der erste Schritt die Reduktion von Nitrat zu Nitrit durch Mikroorganismen (*Aerobacter*, *Micrococcus nitrificans*) bei pH-Werten zwischen 5,4 und 7,2. Eine ausreichende Säuerung durch Abbau fleischeigener Kohlenhydrate (Glykogen) findet nicht statt (53, 74). Deshalb werden Zucker zugesetzt, die enzymatisch oder bakteriell zu Milchsäure abgebaut werden (49).

Gemäß § 1 Abs. 1 Nr. 2 der Fleisch-VO vom 6. Juni 1973 (BGBl I S. 553) ist die Zusatzmenge auf höchstens 0,05 % Natriumnitrat bzw. 0,06 % Kaliumnitrat, bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge, beschränkt. Die gleichzeitige Verwendung von Nitritpökelsalz und Salpeter ist laut § 6 des Nitritgesetzes vom 19. Juni 1934 nur bei der Pökung von großen Fleischstücken zulässig, wenn höchstens 1 kg Salpeter auf 100 kg Nitritpökelsalz kommen. Da gemäß § 3 des Fleischbeschgesetzes Blut unter die Begriffsbestimmung Fleisch fällt, gelten dafür analoge Be-

stimmungen. GRAU (31) und HORNSEY (40) sind der Meinung, daß Salpeterpökellung ein Erzeugnis liefert, das über mehr freies Natriumnitrit verfügt als ein mit Nitritpökelsalz hergestelltes Erzeugnis und ferner auch kräftigere Farbe und höhere Farbstabilität aufweist.

Bei gleichzeitiger Verwendung von Nitritpökelsalz und Salpeter erzielten KOTTER und TERPLAN (55) bei Kochschinken bessere Farbhaltung. Überhöhte Salpetermengen können aber zu dunkelroten, dunkelbraunen und gelblichen Farbtönen führen (53).

3.2. Einfluß innerer und äußerer Versuchsbedingungen

3.2.1 Konzentration an Hämoglobin

Die Reaktionsgeschwindigkeit ist vor allem von der Wasserstoffionenkonzentration sowie der Nitritkonzentration und weniger von der Hämoglobinkonzentration abhängig. Mit fallendem pH-Wert sowie steigender Temperatur- und Nitritkonzentration erhöht sich die Reaktionsgeschwindigkeit (7). Diese Abhängigkeit läßt sich damit erklären, daß der unmittelbare Reaktionspartner des Hämoglobins nicht das NO_2^- -Ion, sondern die undissoziierte salpetrige Säure ist. Die Zugabe von NO-Hämoglobin, das bekanntlich wenig stabil ist, hemmt nicht wie erwartet die Methämoglobinbildung durch salpetrige Säure (44).

3.2.2 Konzentration an Methämoglobin vor Versuchsbeginn

Die Oxidation von Hämoglobin durch Natriumnitrit verläuft schneller, wenn die Lösung vor Versuchsbeginn reich an Methämoglobin ist. Eine hohe Methämoglobinkonzentration ändert den typischen s-förmigen Reaktionsverlauf nicht. Es ist bemerkenswert, daß sich durch Erhöhung der Oxihämoglobinkonzentration die Reaktion verlangsamt (7, 42).

3.2.3 Konzentration an Natriumnitrit

Die NaNO_2 -Oxidation des Hämoglobins ist gegenüber äußeren Ver-

suchsbedingungen, abgesehen von einer langsamen Oxidation bei der weißen Maus, hoch empfindlich. Im allgemeinen verläuft die Oxidation des Blutfarbstoffes beim Menschen schneller als beim Tier (7). Bei Nitritüberschuß wird Methämoglobinnitrit gebildet, das durch Hitzeeinwirkung in NO-Hämochromogen übergeht (71).

MÖHLER und BAUMANN (71) haben den Einfluß verschiedener NaNO_2 -Konzentrationen auf die Umrötung von Blut untersucht. Sie konnten mit 100 bzw. 150 mg NaNO_2 /100 g Blut eine prozentuale Umrötung von 27 % erzielen. Mit steigendem NaNO_2 -Zusatz nahm die Umrötung erheblich ab; bei 600 mg NaNO_2 /100 g Blut waren nur 7 % umgerötet.

3.2.4 Bedeutung des pH-Wertes

Viele Autoren (40, 52, 53, 71, 112) haben auf die Abhängigkeit der Reaktion von der Wasserstoffionenkonzentration hingewiesen. Der optimale pH-Bereich für die Umrötung liegt zwischen 5,2 und 6,0.

Studien von SZAKALY (112) an Myoglobin über den Einfluß des pH-Wertes auf die Bildung und Stabilität von NOMB zeigten, daß Natriumnitrit bei pH-Werten über 6 langsamer, bei pH-Werten unter 6 schneller wirkt, jedoch hinsichtlich der Farbtintensität keine wesentlichen Unterschiede bestehen. Weiterhin war die Stabilität von NOMB bei höheren pH-Werten wesentlich besser, weil offensichtlich bei hohen pH-Werten weniger freie salpetrige Säure gebildet wird.

3.2.5 Temperatur

Der Einfluß der Temperatur auf die Bildung des Pökelfarbstoffes wurde in zahlreichen Arbeiten untersucht (40, 52, 68, 71, 86, 112). Die Umrötung beginnt bereits in der Kälte und steigert sich bei Erhöhung der Temperatur und der Erhitzungsdauer. Bei stärkerer und längerer Temperatureinwirkung wird der Pökelfarbstoff langsam abgebaut. Zwischen 60 °C und 75 °C wird bei Blut die beste Umrötung und Farbstabilität erreicht (68, 71). Auch SZAKALY (112) stellte bei Fleisch fest, daß die Farbtintensität bei Erhitzung

über 100 °C anscheinend schlechter wurde. So war die Farbintensität bei 115 °C gegenüber 100 °C um ca. 30 % niedriger. Bei Anwesenheit von Ascorbinsäure konnte dieser Unterschied auf 10 % verringert werden.

3.3 Hämochromogenbildner

3.3.1 Nitrit

Die Wirkung von Nitrit als Hämochromogenbildner wurde im vorherigen Kapitel über die Umsetzung von Hb und Nitrit bereits ausführlich beschrieben. SZAKALY (112) untersuchte die Auswirkungen steigender Mengen Natriumnitrit bei konstantem Anteil Natriumascorbat und stellte fest, daß der Nitritzusatz von mehr als der benötigten Mindestmenge die Farbbildung weder verbesserte noch verschlechterte. Mit höherem Ascorbatzusatz bei konstantem Nitritanteil dagegen wurde die Pökelfarbe wesentlich besser. Für die optimale Farbbildung waren 1 Mol NaNO_2 auf 1 Mol mb nicht ausreichend, sondern ein Molverhältnis von mindestens 5 : 1 erforderlich. Szakaly (112) gab 25 mg NaNO_2 /kg Fleisch als optimale Natriumnitritkonzentration für Umrötung und Farbstabilität an. In Gegenwart von Natriumascorbat würden bereits 12 mg NaNO_2 /kg Fleisch genügen. Bei Zugabe von 90 ppm Nitrit wurden nach Erhitzung auf 85 °C durchschnittlich 5 bis 20 ppm Nitrit und 30 bis 50 ppm Nitrat wiedergefunden.

Nach WIRTH (123) kann der bei Blutwürsten übliche Nitritzusatz von 90 ppm ohne Beeinträchtigung von Farbe und Geschmack auf 40 ppm reduziert werden. Nur bei Erhitzung über 100 °C (Dreiviertel-, Vollkonserven) wurden unerwünschte Farbveränderungen beobachtet.

3.3.2 Nitrat

Die Anwendung von Salpeter ist von alters her bekannt. Nitrat wirkt wie Nitrit bakterizid (72). Die Bedeutung von Nitrat wurde ausführlich im vorherigen Kapitel über "Bakterielle Vorgänge" behandelt.

3.3.3 Natriumdithionit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)

In vitro-Versuche von JUNG und REMMER (42) ergaben, daß die Reduktion von Methämoglobin bei Vorhandensein von Dithionit besonders schnell verlief. Wegen seiner Giftigkeit kann jedoch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ weder in der Humanmedizin (42) noch in der Fleischtechnologie (71) eingesetzt werden.

3.3.4 Ascorbinsäure

Zur Verbesserung von Farbbildung und Farbhaltung wird Ascorbinsäure i.d.R. in einer Menge von 500 ppm zugesetzt. Sie ist ein starkes Reduktionsmittel und soll an dem Zerfall der salpetrigen Säure beteiligt sein (49, 59). Erythrobinsäure, auch Isoascorbinsäure genannt, hat eine ähnliche Wirkung wie Ascorbinsäure (25) und greift wie Ascorbinsäure in die Nitratreduktion nicht ein. SZAKALY (112) erreichte mit Ascorbat sowie mit Isoascorbat auch bei der sehr hohen Dosierung von 200 Mol/Mol Mb gute Farbbildung. Ascorbinsäurezusatz über 500 ppm kann Myoglobin in Anwesenheit von Luftsauerstoff in grünes Choleglobin überführen (25, 112). Ascorbinsäure und Cystein sollen sowohl hinsichtlich der NO-Myoglobinbildung als auch der Regeneration verblaßter Anschnitte bzw. der Verhinderung des Verblässens frischer Schnittflächen etwa gleich wirksam sein (25, 121). Nach FOX und Mitarbeitern (26) soll Ascorbat eine bessere Reduktionswirkung aufweisen als Cystein. Bei Ascorbatzusatz empfiehlt er, das Verhältnis 1 Mol NaNO_2 auf 1 Mol Mb einzuhalten.

In Brühwurstbräten soll Cystein nach weitgehendem O_2 -Ausschluß und nach dem Erhitzen ebenso wirksam auf die Farbbildung sein wie Ascorbat (25).

Bei Studien von WALSH und DYSON (121) über die Stabilität von NO-Mb bei Licht und unter Ausschluß von Licht zeigten neben Ascorbinsäure auch Hydrochinon und reduziertes Glutathion farbstabilisierende Wirkung. Mit Ascorbat erreichte KAMPFSCHMIDT (46) in Gegenwart von NaNO_2 nach einstündiger Reaktionszeit im Dunkeln eine NO-Myoglobinbildung von 95 bis 100 %.

Durch i.v.-Injektion von 500 ml einer 50 %igen (w/v) Lösung von Natriumascorbat 5bis 10 Minuten vor der Schlachtung konnte ebenfalls die Farbstabilität von Rindfleisch verbessert werden (37).

Nach WIRTH (123) ist jedoch bei Blutwurst durch Na-Ascorbat keine Verbesserung zu erreichen.

3.3.5 Nicotinsäure und Nicotinsäureamid

Nicotinsäure und Nicotinsäureamid sind in allen vegetabilischen und tierischen Nahrungsmitteln enthalten und stellen für den Menschen den sog. Antipellagrafaktor dar (111). Im U.S.-Patent 2491646 wurde die farbverbessernde und farbstabilisierende Wirkung von Nicotinsäure oder Niacin erstmalig beschrieben. Nicotinsäure führt durch Oxigenation Hämoglobin bzw. Myoglobin in Oxi-hämoglobin und -myoglobin über und verleiht dadurch dem Fleisch eine hellrote Farbe (64). KENDRICK und WATTS (48) halten den Zusatz von Nicotinsäure für unzweckmäßig, da Nicotinsäure die Metmyoglobinbildung bei Anwesenheit von Luft beschleunigt. Andererseits behaupten sie, daß Nicotinsäureamid in einer Konzentration von 60 mg % bei niedrigem pH unter anaeroben Verhältnissen die Farbe des Fleisches etwas verbessern kann. Da Nicotinsäure die Ferrihäminfarbstoffe nicht reduzieren kann, empfiehlt MAASS (64) die Verwendung von Nicotinsäure in Kombination mit Ascorbinsäure, die Metmyoglobin bzw. Methämoglobin durch Reduktion ins hellrote Oximyoglobin bzw. -hämoglobin überführen kann.

3.3.6 Glucono-delta-Lacton (GdL)

GdL wird in Fleisch-Erzeugnissen, insbesondere Rohwürsten, zur Steuerung des pH-Wertes zugesetzt (33, 56). Die Zugabemenge liegt i.d.R. zwischen 0,5 und 1,5 %. GdL setzt sich in Gegenwart von Wasser zu der nichttoxischen Gluconsäure um (49). Die damit verbundene pH-Senkung fördert die Entwicklung des Pökelfarbstoffes (31, 33).

KOTTER und Mitarbeiter (56) vermuten, daß Gluconsäure auch mikrobiell aus Glucose gebildet werden kann.

FOX und Mitarbeiter (25) konnten bei Würstchen während des Herstellungsprozesses durch GdL-Zusatz keine Farbverbesserung er-

zielen, jedoch stieg während der Lagerung bei den Proben mit GdL der Gehalt an Pökelfarbstoff an.

Bei GdL-Zusatz zu Rohwürsten beobachteten KOTTER und Mitarbeiter verringertes Wachstum der Keimflora, bessere Umrötung sowie bessere Farbhaltung und Schnittfestigkeit (56). Auch bei Blutwurst wurde durch GdL-Zusatz bessere Farbe erzielt (123).

3.3.7 Cystein

Der Einfluß von Cystein auf Farbbildung und Stabilisierung wurden von GRAU (31) und HORNSEY (40) untersucht. Sie erhielten die höchste Ausbeute an NO-Myochromogen in Gegenwart von Cystein und niedrigem Nitritgehalt. Cystein soll die Pökelfarbstoffbildung beschleunigen, verblaßte Schnitte regenerieren und die Verblasung frischer Schnittflächen verhindern.

Bei Nitritüberschuß vermuten MÖHLER und EBERT (70), daß Cystein die Bildung von N_2O verstärken könne. SZAKALY (112) führte ebenfalls Untersuchungen über die Wirkung von Cystein auf die Pökelfarbstoffbildung durch und fand, daß zur Erreichung des gleichen Umrötungseffektes Nitrit in dreifacher Menge zugesetzt werden muß. Die Cysteinkonzentration sollte bei 100 - 200 Mol/Mol Mb liegen und das Verhältnis Mb : $NaNO_2$ 1 : 3 betragen (86). Der bei Cysteinzusatz gebildete Pökelfarbstoff wies jedoch gegenüber Lichteinfluß eine geringere Stabilität auf, die auf Nitritüberschuß zurückgeführt wurde (112).

3.3.8 Kohlenhydrate

Das fleischverarbeitende Gewerbe begründet den Zuckerzusatz mit Verbesserung von Umrötung, Farbhaltung und Geschmack. Es werden hauptsächlich Dextrose und Zuckerkombinate (Trodenstärkesirup), daneben Lactose und Fructose verwendet. Nach Erfahrungen von KOLLER (52) soll bei Zuckerzusatz die Pökelfarbe rascher entstehen und das Produkt appetitlicher erscheinen. Die Zugabe von Zucker in Mengen von 0,2 - 0,5 % soll den pH-Wert senken, um so günstige Voraussetzungen für die Reaktion zwischen NO und Pigment zu schaffen (31, 53). Dieser Vorgang geschieht enzymatisch oder bakteriell. Nach KOTTER und Mitarbeitern (54) übt Trauben-

zucker keinen Einfluß auf die Reduktion von Nitrat zu Nitrit aus. Außer aus geschmacklichen Gründen hält HORNSEY (40) jedoch den Zuckerzusatz für unnötig. Überhöhte Zuckerzusätze können nach KOTTER (53) eine zu starke Keimvermehrung und damit die Entstehung von Fehlfabrikaten zur Folge haben.

3.3.9 Metallionen

Kleinste Mengen von Schwermetallen, vor allem Kupfer und Eisen, sollen nach GRAU (31) zerstörend auf Ascorbinsäure wirken.

Andererseits soll die Umrötung durch Ferrosulfat deutlich verbessert werden. Diese Verbindung findet jedoch in der Praxis keine Anwendung. Bei gleichzeitiger Anwesenheit katalysieren Fe-, Cu- und Zn-Ionen die Bildung von NO-Hämoglobin und verzögern das Verblassen der Pökelware (109). Untersuchungen von SNYDER und SKRDLANT (109) zeigten, daß Kupfer die Autoxidation des Hämpigments beschleunigt, Eisen dagegen nur wenig wirksam ist und Zink die Reaktion sogar hemmt. Bei Ascorbatzusatz katalysieren Kupfer und Eisen die Reduktion des Hämpigments.

3.3.10 Kochsalz (NaCl)

Die Anwendung von Kochsalz für die Haltbarmachung von Lebensmitteln ist weit verbreitet (116). Daneben spielt es beim Ablauf physiologischer Vorgänge im menschlichen und tierischen Organismus eine unersetzbare Rolle (102). Kochsalz hält den osmotischen Druck der extrazellulären Flüssigkeit aufrecht, es beteiligt sich ebenfalls an der genauen Einhaltung des pH-Wertes der Körperflüssigkeit von pH 7,3 - 7,4 (102). Seine bakterio-statische oder bakterizide Wirkung ist auf Entwässerung, Wirkung von Chloridionen, Beseitigung von Sauerstoff, Sensibilisierung gegen CO₂ sowie Interferenz mit proteolytischen Enzymen zurückzuführen. KRYLOWA und LJASKOWSKAJA (59) sind der Auffassung, daß die Wirkung des Kochsalzes auf Keime nicht allein auf Osmose und der damit verbundenen Plasmolyse beruhen, sondern auch auf Blockierung der Enzyme der Mikroorganismen, indem sich die Anionen und Kationen des Kochsalzes an die Peptidbindungen anlagern und somit die hydrolytische Spaltung der Eiweiße verhindern. Die beim Pökelvorgang unerwünschten proteolytischen Bakterien und

deren Fermente sollen besonders betroffen sein. Hingegen wird eine Flora gefördert, die für den Ablauf bestimmter biochemischer Prozesse notwendig ist. Pathogene Keime werden allerdings nicht abgetötet (53, 72). In bakteriologischen Nährmedien hemmen 3 - 4 % NaCl und 100 - 200 ppm Nitrit das Wachstum von Cl. botulinum A, B, E und F bei pH 6,0 und Temperaturen zwischen 20 °C und 30 °C. Zur Hemmung von Cl. botulinum in Bacon sind jedoch größere Mengen von Nitrit und NaCl erforderlich (3, 89).

3.3.11 Enzyme

Im Blut sind viele Enzymsysteme vorhanden, deren Aufgabe darin besteht, oxidationsempfindliche Zellbestandteile, z.B. Hämoglobin in reduzierter Form zu halten (21, 98). Die wichtigsten sind Methämoglobinreduktase, Glutathionreduktase und nicht zuletzt Diphosphopyridiniumnucleotid (DPN-H₂) bzw. Nicotinamid-adenindinucleotid (NAD), welche im Verlauf der Glykolyse gebildet werden und in Gegenwart von Elektronenüberträgern, nämlich Flavinen, Nicotinamid, Nicotinsäure etc. Methämoglobin schlagartig reduzieren (42), auf die Umrötung aber keinen Effekt ausüben (106).

Nach TAYLOR und WALTERS (120) sollen sich Enzymsysteme wie Cytochrom C und Cytochromoxidase an der NO-Myoglobinbildung beteiligen.

Bei Zusatz von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH), Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADPH) und Flavin beobachteten KOIZUM und BROWN (51) rasche NO-Myoglobinbildung aus Metmyoglobinnitrit. Jedoch kann NADH allein ohne Flavinmononucleotid-Zusatz die NO-Myoglobinbildung nicht beeinflussen.

4. Veränderung der Farbe von Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen

4.1 Fleisch

Frisches Fleisch verändert seine Farbe während der Lagerung. Infolge von Licht- und Sauerstoffeinfluß wird das hellrote Oxi-myoglobin ziemlich rasch in das braunrote Metmyoglobin übergeführt (76, 126). Verminderter Sauerstoffpartialdruck, Mikroorganismen und hohe Temperatur begünstigen die Verfärbung.

Niedrige Temperaturen fördern dagegen die Aufrechterhaltung der frischen Fleischfarbe, da das Keimwachstum, die Zellatmung, die Wärmeproduktion sowie die Autoxidation von Myoglobin zu Metmyoglobin verlangsamt wird (107).

4.2 Umgerötete Fleisch-Erzeugnisse

4.2.1 Nitrit-bedingte Verfärbung

In Abwesenheit reduzierender Stoffe, nämlich SH-Gruppen, reduzierender Abbauprodukte des Zuckers, Cystein, Glutathion und Ascorbinsäure kann Nitrit den Porphyrinring spalten. Dieser Vorgang wird von GRAU (31) als "Nitritbrand" bezeichnet. Nach NIINI-VAARA (72) wird ein Teil von No bei dem Pökelvorgang weiter zu Hydroxylamin reduziert. Zuviel Hydroxylamin kann bei pH-Werten zwischen 5,2 und 5,8 zu grüner Verfärbung führen. JUNG und REMMER (42) haben in ihren Studien über die Umsetzung von Hb und NO₂ die Bildung von Verdoglobin bei Nitritüberschuß beobachtet. Auch wurden Grünverfärbungen unter dem Einfluß von Wasserstoffperoxid beobachtet. Nach GRAU (31) sind Verfärbungen durch H₂O₂ auf die Abwesenheit von Katalase zurückzuführen.

4.2.2 Bakteriell bedingte Verfärbung

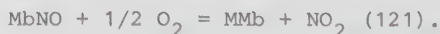
Drei Gruppen von Mikroorganismen können für die Verfärbung von umgeröteten Fleisch-Erzeugnissen in Frage kommen: Oxidasepositive Keime, Schwefelbildner und Peroxidbildner (73). Oxidasepositive Keime verursachen Farbveränderungen durch Oxidation des Muskelfarbstoffes. In verdorbenem Pökelfleisch können Schwefelwasserstoffbildner vorkommen und die S-S-Brücke lösen. Als Folge lagern sich H₂S und Sulfhydryl an das Pigment unter Bildung eines grünen Sulfmyoglobins an (73, 74). Die weitere Oxidation richtet sich gegen den Porphyrinring, der an der Methinbrücke durch Peroxidbildner irreversibel gesprengt wird, wobei eine grüne Verbindung entsteht (31, 73). Grüne Pigmente wie Choleglobin und Sulfmyoglobin weisen noch den geschlossenen Porphyrinring auf. Bei Verdoglobin ist der Ring geöffnet. Tritt Eisen aus dem geöffneten Ring aus, entstehen Gallenpigmente, sog. Biliverdine (47).

4.2.3 Luft- und Lichteinwirkung

NO-Myochromogen kann oxidiert werden (112), wobei NO abgespalten und das Eisen im Mb zur Ferri-Form umgebildet wird. Für diese Oxidation sind Sauerstoff, Nitrit, Bakterien und Licht verantwortlich. Die Oxidation kann durch Luft- und Lichtausschluß (57, 87, 96, 121), Zusatz reduzierender Stoffe und pH-Einstellung verhindert werden (86). Bezüglich des Licht- und Lufteinflusses auf die Stabilität der Pökelfarbe ergaben Studien von REITH und SUAKALY (86), daß die Konzentration an Pigment, Nitrit, Ascorbat und nicht zuletzt die Wasserstoffionenkonzentration entscheidend ist. Proben, die bei pH 7 umröteten, zeigten nach dreistündigem Lichteinfluß keine Farbveränderung, während bei pH 5 und pH 5,5 umgerötete Erzeugnisse Abweichungen auswiesen. Ergänzend fügten sie hinzu, daß sich die Proben mit Ascorbat langsamer verfärben als ohne Ascorbat. WALSH und DYSON (121) führten bei Licht und unter Ausschluß von Licht Versuche über die Stabilität des Pökelfarbstoffes mit verschiedenen pH-Werten, Nitritkonzentrationen, Temperaturen, Lichtintensitäten und Zusätzen durch. Sie beobachteten Oxidationsmechanismen, die das Pigment im Dunkeln langsam und im Licht schnell zerstören, nämlich

1. eine langsame Autoxidation an der Luft,
2. eine rasche Oxidation bei salpetrigem Säurezusatz,
3. eine Photooxidation.

Im Dunkeln verläuft die Reaktion schneller als im Licht. Beim Weglassen von Nitrit hatte der steigende pH-Wert keinen Einfluß auf die Reaktion im Dunkeln, förderte aber die Photooxidation. Bei Nitritzugabe beschleunigte der abnehmende pH-Wert die Oxidation sowohl im Licht als auch im Dunkeln. Bei pH 6,3 wurde die Photooxidation im Licht durch das Nitrit leicht verringert, während die Reaktion im Dunkeln unbeeinflusst blieb. NO-Myoglobin wird wahrscheinlich im Dunkeln durch Autoxidation wie folgt abgebaut:



Diese Reaktion verläuft unabhängig vom pH, ist aber sehr temperaturempfindlich.

Die Zersetzung des NO-Myoglobins im Licht wird als Photooxidation bezeichnet, es entsteht eine Mischung aus reduziertem

Myoglobin und Oximyoglobin (39, 46, 57, 96, 121). Mit dem Anstieg der Strahlungsintensität steigt auch das Ausmaß der Pigmentumwandlung in Oximyoglobin. Hitze und Lichtenergie bewirken die Dissoziation von NO-Myoglobin. Die Photooxidation verläuft sehr schnell, ihre Geschwindigkeit ist von der Lichtintensität und der Temperatur abhängig. Mit steigender Azidität nimmt sie nur unwesentlich ab (46). WALSH und DYSON (121) fanden für die Photooxidation eine überzeugende Erklärung. Sie wiesen die Bildung eines aktivierten NO-Mb-Moleküls durch das absorbierte Licht nach, das entweder zu NOMb inaktiviert wurde oder ein Elektron abgab, um MMb und freies Nitrit-Ion zu bilden.



SNYDER und AYRES (106) verfolgten experimentell die Verfärbung der Fleischoberfläche und fanden die Ursache im Flüssigkeitsverlust. Sie berichteten ebenfalls von einer Hämipigmentoxidation an der Luft. BARTON (5) bezeichnete in seinen Studien über die Farbstabilität des Fleisches das Verblassen der Pökelwaren als Oberflächenerscheinung.

5. Verbesserung von Farbe und Farbhaltung bei Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen

5.1 Anwendung von Kohlenmonoxid (CO)

Aus der Beobachtung, daß der Pökelfarbstoff häufig wenig stabil ist, wurden viele Versuche durchgeführt, um die Farbbildung und -haltung der Pökelware zu verbessern. Studien von EL-BADAWI und Mitarbeitern (14) mit Kohlenmonoxid, das eine große Affinität zu Hämoglobin hat, zeigten, daß CO und Hb einen leuchtend roten Komplex zu bilden vermögen. Da diese kräftig rote Farbe ca. 2 Wochen anhält, wäre eine CO-Behandlung vor allem für Selbstbedienungsmärkte interessant. In der Praxis hat sich jedoch CO wegen seiner Giftigkeit nicht durchgesetzt.

5.2 Anwendung verschiedener Gasgemische

Die Farbe frischen Fleisches ist durch Oximyoglobin, Myoglobin

und Metmyoglobin bedingt (9, 10). Das purpurrote Myoglobin wird bei hohem Sauerstoffpartialdruck in hellrotes Oximyoglobin übergeführt. Dieser Vorgang wird Oxigenierung genannt (1, 8, 36, 60, 88). Bei der Verpackung des Fleisches in Folien soll der Schutzfilm eine O_2 -Durchlässigkeit von 5 Liter O_2/m^2 /Tag/Atmosphäre bei 23,9 °C haben (60), damit Oximyoglobin während der Lagerung erhalten bleibt (1, 10, 60).

Dagegen sind HOOD (36) sowie ADAMS und HUFFMANN (1) der Ansicht, daß trotz dieser sauerstoffdurchlässigen Folienverpackung die hellrote Fleischfarbe infolge Metmyoglobinbildung nicht länger zu konservieren ist. Zur Verlängerung der Haltbarkeit von frischem Fleisch wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt (1, 8, 24, 77, 78, 81, 83). 40 % Kohlendioxid in der Aufbewahrungsluft soll infolge seiner Hemmwirkung auf das Wachstum von Mikroorganismen die Haltbarkeit des Fleisches um 82 Tage, in reiner Stickstoffatmosphäre (90 - 100 %) dagegen nur um 4 Tage verlängern (83). FOURNAUD und Mitarbeiter (24) konnten mit einem Gemisch von CO_2 und N_2 bzw. CO_2 , O_2 und N_2 keine Verlängerung des Frischezustandes erzielen. CLARK und LENTZ (8) erreichten dagegen mit 15 % CO_2 und 85 % O_2 hinsichtlich Farbhaltung und Geruch gute Ergebnisse.

Auch ein Gasgemisch bestehend aus 5 % O_2 , 25 % CO_2 und 70 % N_2 soll bei niedrigen Temperaturen die frische Fleischfarbe fördern. In O_2 und CO_2 angereicherten Atmosphären soll die rote Farbe frischen Fleisches sogar für 2 Wochen erhalten bleiben (75).

Mit der Fleischreifung unter Vakuum befaßten sich ebenfalls zahlreiche Autoren (4, 9, 81, 87, 88). Mit diesen Verfahren wird eine Verbesserung der Farbhaltung und eine Verringerung von Gewichtsverlusten angestrebt (113, 114). Die Vakuumverpackung in sauerstoffundurchlässigen Folien erniedrigt den Sauerstoffpartialdruck. Myoglobin wird zu Metmyoglobin oxidiert (60), das wiederum durch Einwirkung fleischeigener Reduktionssysteme in Myoglobin übergeführt wird (9, 10, 65, 125). Dieses reduzierte Myoglobin soll beim Öffnen des Beutels in Oximyoglobin übergehen (9), das dem Fleisch eine hellrote Farbe verleiht.

Ein Nachlassen des Vakkums während der Lagerung beeinträchtigt die Fleischfarbe und begünstigt das Wachstum unerwünschter Mikro-

organismen (113, 114). Die Arbeiten von PARTMAN und Mitarbeitern (77, 78) ergaben, daß sich ein annähernd totaler O_2 -Entzug, reine N_2 -Atmosphäre bzw. 70 % CO_2 und 30 % Luft gegenüber Lagerung in Luft günstig auf Farbe, Geruch und Verhinderung des Keimwachstums auswirken.

Bereits 1 % O_2 in der N_2 -Atmosphäre genügten, um bei Lagerungstemperaturen zwischen +3 °C und +7 °C Farb- und Geruchsabweichungen hervorzurufen.

FOX und Mitarbeiter (25) sowie RICKERT und Mitarbeiter (88) empfahlen eine CO_2 - oder N_2 -Besprühung vor der Vakuumverpackung, damit der O_2 -Partialdruck möglichst niedrig gehalten wird. Die Farbhaltung umgeröteten Fleisches würde durch CO_2 besser stabilisiert als durch N_2 (88).

5.3 Anwendung von Hämoglobin

Nach einem Patent (West German Patent Application 2008) (118) soll CO -stabilisiertes Hämoglobin in flüssiger oder getrockneter Form Nitrit ersetzen können. Der Zusatz einer 1 %-igen Lösung ergab die beste Farbe, die erst nach 5 Tagen zu vergrauen begann.

5.4 Anwendung von Metallionen

Nach SNYDER und SKRDLANT (109) bewirkt Kupfer eindeutig die Autoxidation des Hämipigments. Beim Ascorbatzusatz katalysieren Kupfer und Eisen die Reduktion des Metpigments und verhindern das Verblässen von gepökelten Erzeugnissen.

6. Toxikologie der Pökelstoffe

6.1 Nitrat- und Nitritvergiftungen

Pökelsalze kamen in Deutschland erstmalig 1916 in den Handel. In der Meinung, daß der Grad und die Schnelligkeit der Umrötung von der Nitritmenge abhängt, wurden damals Pökelsalze mit sehr hohem Nitritgehalt angeboten. Zu dieser Zeit waren Nitritvergiftungen, oft mit tödlichem Ausgang, häufig (52). Jedoch erst 1934 trat ein "Gesetz über die Verwendung salpetrigsaurer Salze im Lebensmittelverkehr (Nitritgesetz)" in Kraft.

Die Nitritvergiftung äußert sich beim Menschen durch Zyanose, graublaue Verfärbung von Gesicht, Mundhöhlenschleimhaut und Zunge. Außerdem werden Durchfälle, Kraftlosigkeit, Hautexantheme, Atemnot, Herzklopfen, Nervosität, Schwindel und Kopfschmerzen beobachtet (61). Die toxische Wirkung von Nitrit beruht weniger auf Schleimhautläsionen infolge der Entstehung von salpetriger Säure (61, 120), als vielmehr auf Methämoglobinbildung (61).

Methämoglobin kann keinen Sauerstoff binden und ist daher für den O_2 -Transport ungeeignet (43, 52, 61, 98, 120). In der Humanmedizin wurde Nitrit früher als Kreislaufmittel eingesetzt, wegen seiner Toxizität jedoch bald aufgegeben (120).

6.2 Nitrosamine

6.2.1 Kanzerogene Stoffe

Nach statistischen Angaben ist Krebs als Todesursache von der siebten (1900) an die zweite Stelle gerückt. In der Bundesrepublik Deutschland waren 1960 Krebserkrankungen mit 19,2 % an der Gesamtsterblichkeit beteiligt (6).

Als kanzerogene Stoffe gelten u.a. polycyclische Kohlenwasserstoffe (3,4-Benzpyren), aromatische Amine (2-Aminofluorene), Mycotoxine (Aflatoxin B_1), p-Aminoazobenzol, Nitrosamine, Selen und Radium. In geräucherten Fleischwaren und bei gegrillten Steaks können polycyclische Kohlenwasserstoffe, vor allem 3,4-Benzpyren, 1,12-Benzperylen und 1,2-Benzanthracen vorkommen. Größere Mengen an 3,4-Benzpyren werden in Ruß und Rauch von Verbrennungsanlagen, in Auspuffgasen, im Teer und im Staub von Großstädten und Industrieanlagen gefunden, so daß Getreide und Gemüse, die in Industrie- und Autobahnnähe angebaut werden, mit enorm hohen Mengen an 3,4-Benzpyren kontaminiert sein können. Bei Fleisch-Erzeugnissen sind insbesondere polycyclische Kohlenwasserstoffe, Mycotoxine und Nitrosamine von Interesse (119).

6.2.2 Vorkommen von Aminen

Biogene Amine sind niedermolekulare organische Basen, die in Lebensmitteln, Futtermitteln und Arzneimitteln vorkommen (11, 15, 35, 63, 82, 100). Sie entstehen durch Decarboxylierung von Aminosäuren und u.U. auch durch Aminierung von Aldehyden und Ketonen (100). Dimethylamin ist besonders in Makrelen- (145 mg/kg) und

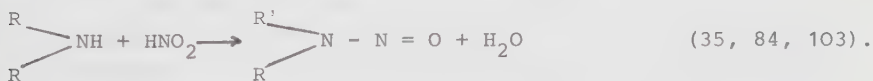
Heringskonserven (100 mg/kg), in frischem (16 mg/kg) und gekochtem Kabeljau (83 mg/kg), in Hackfleisch (0,4 mg/kg), in Tomaten- und Orangensaft (0,2 mg/kg) und in Bananen (0,2 mg/kg) enthalten.

Trimethylamin kommt ebenfalls in hoher Konzentration in Makrelen (550 mg/kg) und Heringskonserven (345 mg/kg) sowie in gekochtem Kabeljau (195 mg/kg), in Hackfleisch (2,5 mg/kg) und in Orangen- und Tomatensaft (0,4 mg/kg) vor (91).

PATTERSON und MOTTRAM (79) isolierten aus dem *M. long. dorsi* unmittelbar nach der Schlachtung 1490 ug/kg Methylamin, 286 ug/kg Trimethylamin, 135 ug/kg Dimethylamin, 55 ug/kg iso-Propylamin, 41 ug/kg n-Propylamin und 10 ug/kg Diäthylamin. Nach 76-stündiger Kühlung wurden nur noch 70 % des ursprünglich vorhandenen Methylamins gefunden; Dimethylamin und Trimethylamin hatten dagegen um 30 %, n-Propylamin um 60 % zugenommen. Ein weiterer Anstieg wurde auch bei der Pökellung beobachtet.

6.2.3. Bildung von Nitrosaminen

Kanzerogene Nitroso-Verbindungen können aus sekundären und tertiären Aminen, aus quartären Ammoniumbasen und aus zahlreichen Alkylamiden entstehen (12, 15, 63, 93, 94). Im sauren Bereich reagiert die Iminogruppe (-NH-) mit Nitrit unter Nitrosaminbildung (12, 15, 63, 84, 93, 103, 104) wie folgt:



Vorwiegend entstehen Nitrosamine aus sekundären Aminen, da primäre Amine bei der Nitrosierung desaminiert werden (35).



Die Nitrosierbarkeit hängt von der Basizität der Amine ab. Schwach basische Amine sind viel leichter nitrosierbar als stärker basische (35, 93, 94). Nitrit- und Amingehalt, pH-Wert, Temperatur sowie Reaktionsgeschwindigkeit sind Faktoren, die bei der Nitrosierung eine wesentliche Rolle spielen. Nitrat wird u.a. über Trinkwasser in Mengen von ca. 5 - 10, maximal 20 - 50 ppm sowie über Gemüse aufgenommen (35, 95) und im Magen bakteriell zu Nitrit reduziert (52, 95).

Nitrit ist in einer Menge von 1 - 10 ppm im Speichel enthalten (35, 93, 95, 103). HORNSEY (40) fand in Bacon Nitritwerte zwischen 3 und 50 ppm. In einer Untersuchung von SANDER (92) schwankte der Nitritgehalt in Würsten und Schinken zwischen 0,5 und 61,5 ppm, in Käse zwischen 0,3 und 8,1 ppm, in Räucherfisch zwischen 2,3 und 14,5 ppm und in Fisch- und Fischkonserven zwischen 0 und 1,9 ppm.

In Fisch, Fleisch und insbesondere in umgeröteten Fleisch-Erzeugnissen können bei niedrigen pH-Werten Nitrosamine entstehen (2, 15, 19, 20, 104). Aus NO-Hämochromogen bzw. NO-Myochromogen bilden sich keine Nitrosamine, da NO im Pökelfarbstoff fest fixiert bleibt (27). Die Nitrosierung soll durch Na-Ascorbatzusatz verhindert (19, 20, 79, 95) und durch GdL-Zusatz begünstigt werden (19).

Bestimmte Aminosäuren wie Valin, Prolin, Alanin, Arginin, Histidin und Tryptophan können bei Anwesenheit von Nitrit und Erhitzungstemperatur zwischen 100 °C und 170 °C sowie bei pH-Werten zwischen 5,6 - 6,5 Nitrosamine, insbesondere Dimethylnitrosamin (DMN) in großer Menge bilden (15). Dimethylnitrosamin und Nitrosopyrrolidin (NPy) sind hoch kanzerogen und gegen hohe Temperaturen unempfindlich. Auch kann das schwach kanzerogene Nitrososarcosin bzw. Nitrosoprolin in DMN sowie in NPy übergehen (18).

Bei der Verfütterung von Nitrit und sekundären Aminen an Ratten ließ sich eine Nitrosaminsynthese im Magen der Versuchstiere nachweisen (62, 93). SANDER und Mitarbeiter (93) konnten bei pH-Werten zwischen 1 und 3 mit Diphenylamin, N-Methylanilin und Dipropylamin eine maximale Nitrosaminausbeute erzielen. LIJINSKY und Mitarbeiter (62) haben die Nitrosaminbildung in saurer Lösung bei pH 3,5 bis 5,5 und bei 37 °C in Gegenwart von Natriumnitrit und Oxytetracyclin, Aminopyrin sowie Piperin nach 4-stündiger Reaktion beobachtet. Jedoch auch im Neutralbereich ist eine Nitrosaminsynthese möglich (93). SANDER (95) weist darauf hin, daß aus Piperazin und Nitrit Dinitrosopiperazin entstehen kann.

6.2.4 Kanzerogene Wirkung von Nitrosaminen

In Abhängigkeit von Dosierung, Applikationsweise und Versuchstierart lassen sich mit Nitrosaminen selektiv Tumoren induzieren (12, 15, 62, 117).

Die kanzerogene Wirkung der Nitrosamine beruht auf einem Angriff

an Duplikanten bzw. Nucleinsäuren. Das dabei alkylierte, irreversibel veränderte Guanin paart sich bei der Duplikation mit Thymin statt mit Cytosin (falsche Paarung der Basen). Es resultiert ein Verlust der normalen Information und eine Änderung des Code (12).

LIJINSKY und Mitarbeiter (62) haben die Toxizität von Nitrosaminen an Versuchstieren nachgewiesen. Ratten, die Aminopyrin und Nitrit erhielten, zeigten pathologisch-anatomische Veränderungen wie Hämangioendothelsarkome und maligne Tumoren der Leber mit Metastasen in der Lunge; eine niedrige Dosis von Aminopyrin induzierte Parotis- und Mammatumoren. Bei Tieren, die mit Heptamethylamin und Nitrit gefüttert worden waren, entwickelten sich Oesophagealpapillome und Lungenkarzinome. An multiplen Tumoren im Oesophagus starben auch die Versuchstiere von SANDER, SCHWEINBERG und MENZ (92). Die geringe Zugabe eines nicht toxisch wirkenden Amins führte infolge Nitrosaminbildung zu einer wesentlichen Verzögerung des Wachstums und zu einer starken Gewichtsabnahme der Tiere (93). Dimethyl-, Diäthyl-, Di-n-propyl- und Butyl-butanol-n-nitrosamin sowie N-Nitrosomorpholin scheinen eine spezifisch kanzerogene Wirkung auf die Leber zu haben.

Auf den Oesophagus wirken Methyl-vinyl-, Methyl-penthyll-, Methyl-benzyl-nitrosamin, N-Nitrosopiperidin und Di-Nitrosopiperazin kanzerogen.

Butyl-butanol-n-nitrosamin induziert in der Harnblase, Methylallylnitrosamin in der Niere, N-Nitrosomethylharnstoff im Gehirn und N-Nitrosodimethylharnstoff im Nervensystem Tumoren (84). Es ist anzunehmen, daß die N-Nitrosoverbindungen, die bei Versuchstieren (Mäuse, Hamster, Ratten, Kaninchen, Hunde, Schweine, Forellen, Affen) kanzerogen sind, beim Menschen ebenso wirken (84).

TERRACINI und Mitarbeiter (117) sowie DRUCKREY und Mitarbeiter (12) befaßten sich mit der Frage der Dosis. Die täglich tolerierbare Nitrosaminmenge soll jedoch ohne Null-Gefährdung für den Menschen (35) 5 bis 10 ppb betragen (35, 84). 20 und 50 ppm Dimethylnitrosamin erzeugen bei Ratten nach ca. 60 Wochen Leberparenchymschäden mit zentrilobulärer Nekrose. Auch bereits Dosen zwischen 2 und 10 ppm DMN führen zu einer cystischen und tumorigen Leberzellentartung (117). Eine Tagesdosis zwischen 0,075 mg und

14,5 mg/kg von Diäthylnitrosamin hatte bei Ratten Leberzirrhose und -tumoren mit Gallengangswucherungen zur Folge. Niedrigere Dosierungen verursachten ausgedehnte Karzinome in der Leber mit zahlreichen Knoten und monströsen Geschwülsten sowie Metastasen in Bauchhöhle und Lunge.

Die tägliche Verabreichung von 0,15 mg Diäthylnitrosamin (DÄN)/kg führte bei Ratten nach einer Induktionszeit von 609 Tagen zu einzelnen Leberkarzinomen mit Metastasen in den Lungen.

Nach einer täglichen Verabreichung von 0,075 mg DÄN/kg wurden bei Ratten nach 750 Tagen Plattenepithelkarzinome der Nase mit multiplen Papillomen der Speiseröhre und gutartigen Hepatomen beobachtet. Eine Gesamtdosis von 114,0 mg DÄN/kg bewirkte bei Ratten nach einer Induktionszeit von 760 Tagen eine 100 %-ige Krebs-Manifestation (12).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

7. Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurde schlachtfrisches defibriniertes Schweineblut verwendet, das bis zu Versuchsbeginn bei +1 °C gelagert wurde.

7.1 Hämoglobinbestimmung

Die Bestimmung des Hämoglobins mittels der Hämiglobincyanidmethode wurde als das genaueste Verfahren beschrieben (17, 34). Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß Hämoglobin durch Kaliumferricyanid (Kaliumhexacyanoferrat III) zu Hämiglobin oxidiert wird. Dieses reagiert mit Kaliumcyanid unter Bildung von Hämiglobincyanid, das sich durch besondere Stabilität auszeichnet und photometrisch gemessen werden kann (126). Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß sich das Hämoglobin sowie auch dessen Verbindungen Oxihämoglobin, Methämoglobin, CO-Hämoglobin, NO-Hämoglobin gleichermaßen leicht in beständiges Cyanmethämoglobin umwandeln lassen (29).

Die Bestimmung des Hämoglobins erfolgte nach der Arbeitsanleitung und mit den gebrauchsfertigen Reagenzien der Firma Merck (Merckotest Hämoglobin). Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung und Kaliumcyanid-Lösung wurden in einem 1000 ml Meßkolben mit bidest. Wasser vollständig gemischt und in einer dunklen Flasche aufbewahrt. Für die Durchführung wurden 5 ml der Reaktionslösung in ein sauberes Reagenzglas pipettiert und mit 0,02 ml Blut, das vor der Entnahme gründlich geschüttelt worden war, vermischt. Nach 3 Minuten erfolgte die Messung der Extinktion gegen die Reaktionslösung als Blindwert im Beckman-Spektralphotometer Typ DB-G in einer 10 mm Glasküvette bei 540 nm.

Die Berechnung erfolgte nach der Formel:

Hämoglobin-Konzentration = Extinktion x 36,8 g Hb/100 ml.

7.2 Bestimmung der prozentualen Umrötung

Prinzip:

Zur objektiven Beurteilung des Umrötungsgrades entwickelte HORNSEY (38, 39) ein Acetonextraktionsverfahren, das von MÖHLER (67) modifiziert wurde. Bei dieser Methode wird der Pökelfarbstoff

durch Aceton extrahiert. In der mit HCl versetzten wäßrigen Aceton-Nitrosohämochromogen-Lösung liegt der gesamte Farbstoff als Met-Form oder salzsaures Hämin vor. Unter Gesamtfarbstoff versteht man Hämoglobin und seine Derivate (Oxihämoglobin, Met-hämoglobin, Methämoglobinnitrit, NO-Hämoglobin, NO-Hämochromogen, CO-Hämoglobin, CO₂-Hämoglobin).

Durchführung:

Wegen des höheren Pigmentgehaltes von Blut wurden zur Extraktion jeweils 2 g Blut bzw. der im Tischkutter zerkleinerten und anschließend intensiv durchgemischten Blutwurstmasse in braune Flaschen eingewogen und für die Bestimmung von NO-Hämochromogen mit 98 ml einer 100 %igen Acetonlösung versetzt (71). Die Flaschen wurden anschließend verschlossen und zur Ausfällung des Fettes 1 Stunde bei 1 °C gelagert. Nach Ausfällung des Fettes wurden die Proben durch einen Faltenfilter möglichst schnell in braune Flaschen filtriert und bei 540 nm in einer 10 mm Glasküvette im Beckman Spektralphotometer Typ DB-G gegen 100 %iges Aceton als Blindwert gemessen. Die Extraktion des Gesamtfarbstoffes erfolgte in gleicher Weise unter Verwendung von 98 ml einer Mischung aus 90 ml Aceton und 2,5 ml konz. HCl. Nach Filtration wurde dieser Ansatz bei 640 nm gemessen. Die prozentuale Umrötung wurde nach der Formel

$$\text{Umrötung in \%} = \frac{\text{Extinktion Aceton } 540 \text{ nm} \times 40}{\text{Extinktion Aceton HCl } 640 \text{ nm}} \quad \text{berechnet.}$$

7.3 Nitrit- und Nitratbestimmung

Aufstellung der Eichkurve

Zur Aufstellung der Eichkurve wurden 5 mg NaNO₃ eingewogen und in 100 ml Aqua dest. gelöst. Davon wurden wiederum 10 ml in 100 ml Aqua dest. pipettiert, so daß die zweite Lösung 0,5 mg NaNO₃/100 ml enthielt. Aus dieser Lösung pipettierte man 10 ml ab und versetzte sie mit 10 ml Aqua dest. und 5 ml Ammoniakpuffer. Nach dem Umschütteln lief die Lösung zweimal über die Reduktionssäule. Nach dreimaliger Nachspülung mit 10 ml Wasser wurde ein 100 ml Meßkolben bis zur Marke aufgefüllt. Zur Farbmessung wurden 10 ml entnommen und mit 10 ml Grieß'schem Reagenz (aus gleichen Teilen Grieß I und

Grieß II) gemischt und nach 20 Minuten gegen eine Blindprobe aus 9,5 ml Wasser, 0,5 ml Ammoniakpuffer und 10 ml Grieß'schem Reagenz im Spektralphotometer in einer 10 mm Glasküvette im Bereich von 525 nm gemessen. Weitere Nitratkonzentrationen zur Aufstellung der Eichkurve betrugen 0,1 mg, 0,15 mg, 0,20 mg, 0,25 mg und 0,30 mg pro 100 ml Aqua dest. Die Nitritkonzentration wurde nach der Formel

$$E \times 34 = \dots \text{ mg NaNO}_2 / 100 \text{ ml} \quad \text{berechnet.}$$

Nitrit- und Nitratbestimmung

Nach einer Methode von ERBEN (16) kann Nitrit potentiometrisch unter Verwendung einer Platin- und Kohleelektrode bestimmt werden. Nach Angaben von GERHARD und HALLER (28) soll diese Methode mit einer Orion-Elektrode einfacher und genauer sein. Für vorliegende Untersuchungen wurde das von MÖHLER (66) modifizierte, kombinierte Verfahren von GRAU und MIRNA (31) sowie FOLLET und RATCLIFF (22) gewählt.

Prinzip

Es handelt sich um ein indirektes Verfahren, indem man mittels einer Cadmiumreduktorsäule Nitrat zu Nitrit reduziert und dieses nach der Diazotierung colorimetrisch ermittelt.

Durchführung

Die Bestimmung teilt sich in eine Eiweißfällungsphase mittels Borax- und Carrez II-Lösung bzw. Zinksulfatlösung, eine Nitratreduktionsphase mittels Cadmiumreduktorsäule und Ammoniakpufferlösung und eine Farbentwicklungsphase mit Grieß I bzw. Sulfanilsäure und Grieß II bzw. Naphtylamin. Für die Eiweißfällung wurden 10 g Blut bzw. 10 g der homogenisierten Blutwurst in einem 200 ml Meßkolben eingewogen und mit 5 ml gesättigter Boraxlösung sowie 150 ml heißem Wasser aufgeschlämmt. Der Kolben wurde 15 Minuten in siedendem Wasserbad erhitzt und der Inhalt nach Erhitzung sofort mit 1 ml Zinksulfatlösung versetzt. Nach dem Abkühlen wurde der Kolben bis zur Marke aufgefüllt und filtriert. Für die Nitritbestimmung wurden 20 ml des Filtrats in einen 100 ml-Meßkolben pipettiert, mit 5 ml Ammoniakpufferlösung versetzt und mit Aqua dest. auf 100 aufgefüllt. Von dieser Mischung wurden 10 ml mit 10 ml Diazoreagenz gemischt. Nach 20 Minuten wurde die entwickelte Farbe

im Spektralphotometer in einer 10 mm Küvette bei 525 nm gegen eine Blindlösung aus 0,5 ml Ammoniakpuffer, 9,5 ml Aqua dest. und 10 ml Diazoreagenz gemessen. Für die Nitratbestimmung wurden 20 ml des Filtrats in ein Kölbchen pipettiert, mit 5 ml Ammoniakpufferlösung versetzt und auf die Reduktionssäule gegeben; der Durchlauf wurde aufgefangen und erneut auf die Säule gegeben. Das weitere Vorgehen wurde bereits ausführlich bei der Aufstellung der Eichkurve beschrieben.

Berechnung

Die abgelesene Extinktion $\times 34$ ergab die Nitritmenge in mg/100 g Blut bzw. Blutwurst. Der Faktor 34 war nur für die aufgestellte Eichkurve repräsentativ. Die Nitratkonzentration wurde errechnet, indem man die abgelesene Extinktion mit 34 multiplizierte und die gefundene Menge Nitrit von diesem Wert abzog. Der Nitritwert wurde anschließend auf NO_3 wie folgt umgerechnet:

$$\begin{aligned}\text{Molekulargewicht NaNO}_2 &= 68,995 \\ \text{Molekulargewicht NaNO}_3 &= 84,995 \\ 68,995 : 84,995 &= \text{NO}_2\text{-Wert} : x \\ x &= \frac{\text{NO}_2\text{-Wert} \times 84,995}{68,995} \\ x &= \text{mg NaNO}_3 / 100 \text{ g Blut bzw. Blutwurst.}\end{aligned}$$

7.4 Versuchsreihe I

7.4.1 Einfluß von Temperatur, Lagerungszeit, Sauerstoffgehalt und Umrötungshilfsstoffen auf Pökelfarbstoffbildung, pH-Wert sowie Nitrit- und Nitratgehalt in Blut

Nach Bestimmung von pH-Wert und Hämoglobin wurden 250 g Blut in braune Weithals-Standflaschen eingewogen, mit den jeweiligen Hilfsmitteln versetzt und verschlossen (Charge I - IV) bzw. offen (Charge Ia - IVa) zwei Minuten elektromagnetisch gerührt. Die einzelnen Chargen enthielten pro 100 g Blut folgende Zusätze:

Charge I	2,0 g	Nitritpökelsalz (12 mg NaNO_2)
	0,05 g	Natriumascorbat
Charge II	2,0 g	Nitritpökelsalz
	0,05 g	Natriumascorbat
	0,0382 g	Cystein

EICKKURVE VON NITRAT

E (525 nm)

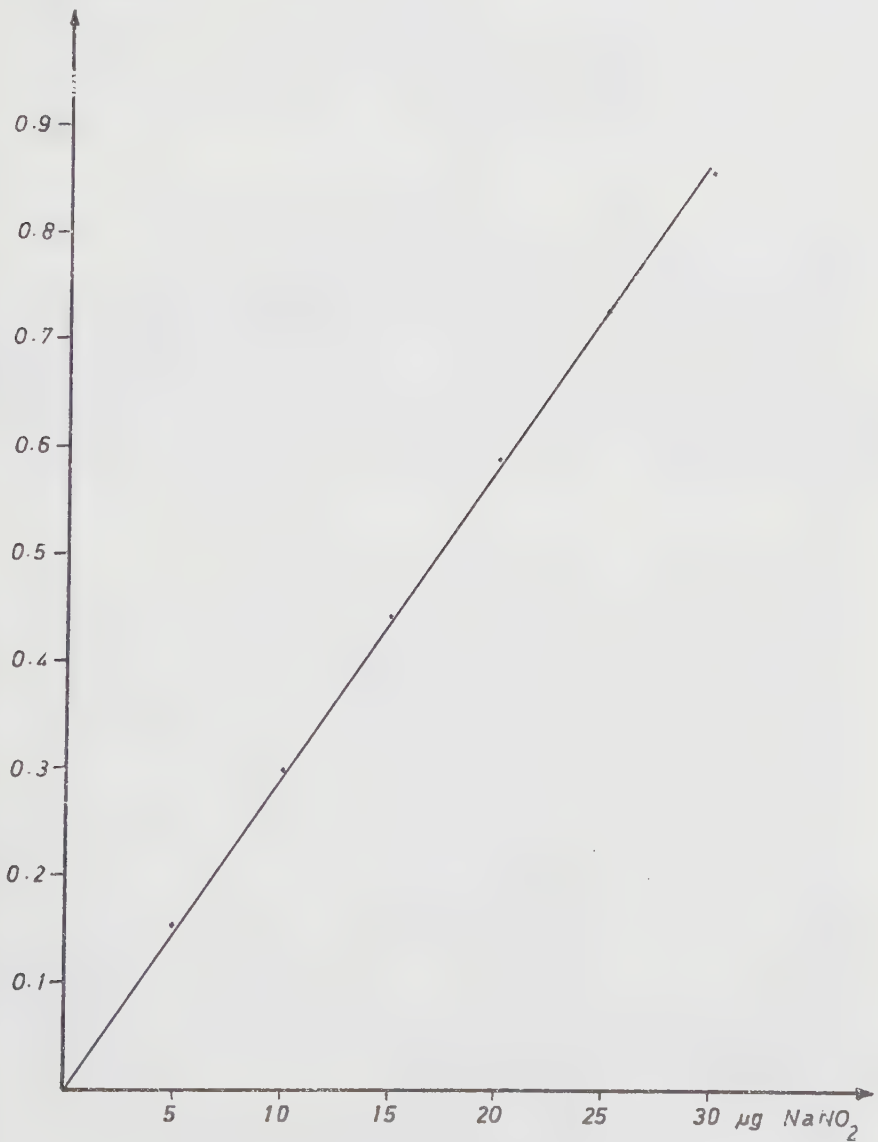


Abbildung : 1

Charge III	2,0	g	Nitritpökelsalz
	0,05	g	Natriumascorbat
	0,125	g	Glucono-delta-Lacton
	0,1	g	Glucose
	0,8	g	Lactose
Charge IV	2,0	g	Nitritpökelsalz
	0,05	g	Natriumascorbat
	0,01	g	Nicotinsäureamid

Nitrit, Nitrat, prozentuale Umrötung und pH-Wert wurden sofort nach dem Verrühren sowie nach 2, 4, 5 und 6 Tagen Lagerung (Charge I - IV geschlossen, Charge Ia - IVa offen) bei +1 °C bestimmt. Von den entsprechenden Chargen wurden weiterhin 30 g in luftdicht verschließbare Gläser eingewogen, 45 Minuten bei 80 °C erhitzt und nach Abkühlung die o.a. Bestimmungen durchgeführt.

7.4.2 Ergebnisse (Siehe Tabellen 3, 4, 5 und 6)

Wie aus Tabelle 3 und 5 hervorgeht, hatten die Chargen Ia - IVa die offen gelagert und jeden Tag zwei Minuten offen elektromagnetisch gerührt worden waren, sowohl nach Lagerung als auch nach Erhitzung eine höhere prozentuale Umrötung als die geschlossen aufbewahrten Chargen I - IV. Diese Ergebnisse bestätigen somit die praktischen Erfahrungen von SCHEID (97) und WIRTH (124). Außer Charge II, III und IIIa wiesen die nicht erhitzten Proben am 6. Lagerungstag die höchsten Umrötungswerte auf. Die Umrötung stieg im Verlauf der Lagerung jedoch nicht kontinuierlich an; die verschiedenen Zusätze haben offensichtlich unterschiedliche Wirkungsoptima. Von den verwendeten Hilfsstoffen scheint die Kombination Natriumascorbat, Glucono-delta-Lacton, Glucose und Lactose (Charge III bzw. IIIa) die Bildung von Stickoxidhämoglobin am günstigsten zu beeinflussen. Mit diesem Zusatz war auch die stärkste Senkung des pH-Wertes zu erreichen, die im übrigen durch die anderen Hilfsstoffe nicht beeinflusst wurde.

Nitrit konnte nur in ganz geringen Mengen bis zum 2. Tag (Chargen I, IV, IIa und IIIa) oder überhaupt nicht (Charge III) nachgewiesen werden. Der Nitratgehalt der rohen Proben veränderte sich im Verlauf der Lagerung nur unwesentlich. Die erhitzten Proben hatten insgesamt niedrigere Umrötungswerte als die rohen Chargen. Es zeigt

sich jedoch auch hier, daß durch längere Lagerungszeit eine höhere Umrötung zu erreichen ist. Nitrit konnte bei den erhitzten Chargen nicht nachgewiesen werden, dafür wurden gegenüber den unerhitzten Proben höhere Nitratwerte gefunden. Ab dem 4. Lagerungstag war eine Abnahme des Nitratgehaltes zu verzeichnen.

7.5 Versuchsreihe II

7.5.1 Einfluß von Temperatur, Lagerungszeit und Umrötungshilfsstoffen auf die Bildung von Pökelfarbstoff in Blut ohne Nitritpökelsalzzusatz

Nach Bestimmung von pH-Wert, Hämoglobin und Nitrat wurden 250 g Blut in braune Weithals-Standflaschen eingewogen, mit dem jeweiligen Umrötungshilfsmittel versetzt und offen zwei Minuten elektromagnetisch gerührt. Die einzelnen Chargen (pro 100 g Blut) setzten sich wie folgt zusammen:

Charge I	0,05 g	Glutamat
	0,05 g	Natriumascorbat
Charge II	0,0382 g	Cystein
	0,05 g	Natriumascorbat
Charge III	0,8 g	Lactose
	0,1 g	Glucose
	0,125 g	Glucono-delta-Lacton
	0,05 g	Natriumascorbat
Charge IV	0,01 g	Nicotinsäureamid
	0,05 g	Natriumascorbat
Charge V	0,05 g	Natriumascorbat
Charge VI	Kontrolle Blut ohne Zusatz	

Prozentuale Umrötung und pH-Wert wurden sofort nach dem Vermischen und nach 1, 2, 3, 4 und 5 Lagerungstagen bei +1 °C bestimmt. Von den entsprechenden Proben wurden weiterhin 30 g in luftdicht verschließbare Gläser eingewogen und 45 Minuten bei 80 °C erhitzt und ebenfalls die o.a. Bestimmungen durchgeführt.

Tabelle 3: Bildung von Pökelfarbstoff in Blut (12,7 g Hb/100 g Blut, pH 7,5 und 7,6 ppm Nitrat) sowie pH-Wert nach Vermischung mit Nitritpökelsalz und verschiedenen Umrötungshilfsstoffen in Abhängigkeit von Sauerstoffgehalt und Lagerungszeit bei + 1° C

Lagerungszeit in Tagen	pH-Wert						prozentuale Umrötung					
	0	2	4	5	6		0	2	4	5	6	
verschlossen												
Charge I	7,5	7,5	7,5	7,5	7,6		4,6	7,9	4,0	6,3	12,6	I
Charge II	7,6	7,4	7,5	7,4	7,4		2,8	7,5	16,2	5,2	6,9	3
Charge III	7,3	7,3	7,4	7,3	7,1		9,5	9,8	14,8	10,0	13,9	I
Charge IV	7,4	7,4	7,5	7,5	7,6		3,9	2,6	7,2	8,3	18,3	
offen												
Charge I a	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6		5,0	8,1	14,6	17,3	37,4	
Charge II a	7,6	7,6	7,5	7,6	7,6		9,8	16,8	18,7	10,0	42,2	
Charge III a	7,5	7,4	7,4	7,2	7,1		12,1	16,1	17,0	23,5	19,3	
Charge IV a	7,6	7,6	7,6	7,5	7,6		10,0	6,0	10,4	21,4	23,6	

Tabelle 4: Nitrit- bzw. Nitratgehalt in Blut (12,7 g Hb/100 g Blut, pH 7,5 und 7,8 ppm Nitrat)
in Abhängigkeit von Umrötungshilfsstoffen, Sauerstoff und Lagerungszeit bei + 1° C

Lagerung in Tagen	Nitrit ppm					Nitrat ppm				
	0	2	4	5	6	0	2	4	5	6
verschlossen										
Charge I	3,0	1,0	0,0	0,0	0,0	108	95	118	126	98
Charge II	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	95	120	100	98	85
Charge III	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	101	118	128	89	78
Charge IV	1,7	1,0	0,0	0,0	0,0	110	157	132	78	82
offen										
Charge I a	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	96	126	104	98	96
Charge II a	3,0	2,5	0,0	0,0	0,0	93	120	105	112	104
Charge III a	1,6	1,0	0,0	0,0	0,0	103	133	82	95	102
Charge IV a	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	111	128	95	105	114

1
3
1

Tabelle 5: Bildung von Pökelfarbstoff in Blut (12,7 g Hb/100 g Blut, pH 7,5 und 7,8 Nitrat) sowie pH-Wert nach Vermischung mit Nitritpökelsalz und verschiedenen Umrötungshilfsstoffen in Abhängigkeit von Sauerstoffgehalt und Lagerungszeit nach Erhitzen auf 80° C

Lagerungszeit in Tagen	prozentuale Umrötung					
	0	2	4	5	6	
verschlossen						
Charge I	2,3	5,6	4,3	4,5	7,0	
Charge II	2,4	3,1	3,1	5,8	10,4	
Charge III	3,9	7,6	3,8	9,1	6,6	
Charge IV	2,6	5,0	2,3	5,7	15,2	
offen						
Charge I a	2,9	6,3	3,3	12,1	7,4	
Charge II a	4,2	4,7	3,6	7,6	7,8	
Charge III a	4,5	6,3	4,5	13,2	6,5	
Charge IV a	3,4	5,6	3,9	13,7	11,3	

Tabelle 6: Nitrit- bzw. Nitratgehalt in Blut (12,7 g Hb/100 g Blut, pH 7,5 und 7,8 ppm Nitrat) in Abhängigkeit von Umrötungshilfsstoffen, Sauerstoff und Lagerungszeit nach Erhitzung auf 80° C

Lagerungszeit in Tagen	Nitrit ppm					Nitrat ppm				
	0	2	4	5	6	0	2	4	5	6
verschlossen										
Charge I	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	180	190	120	129	89
Charge II	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	175	201	118	129	49
Charge III	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	187	204	135	110	37
Charge IV	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	198	201	131	141	92
offen										
Charge I a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	178	118	89	100
Charge II a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	102	175	114	92	83
Charge III a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	118	201	123	63	59
Charge IV a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	137	224	126	144	113

7.5.2 Ergebnisse (Siehe Tabellen 7, 8 und 9)

Nur die Kombination Lactose, Glucose, GdL und Natriumascorbat (Charge III) senkte den pH-Wert des unbehandelten frischen Blutes von 7,6 auf 7,1. Im Verlauf der 5tägigen Lagerung war bei allen Chargen ein pH-Anstieg um 0,1 bis 0,5 Einheiten zu verzeichnen. Bei sämtlichen Chargen bildete sich über die gesamte Lagerungszeit bei +1 °C kaum Pökelfarbstoff. Zusatzbedingte Unterschiede konnten nicht nachgewiesen werden. Durch Erhitzung auf 80 °C stiegen die Werte für die prozentuale Umrötung beträchtlich an. Die Chargen I und II wiesen unmittelbar nach Vermischen der Zusätze die höchste prozentuale Umrötung auf, Charge II, III und IV hatten das Optimum am 3. Lagerungstag. Bei der Probe ohne Zusätze (Charge VI) waren abgesehen von der eintägigen Lagerung bis zum 3. Tag gleichbleibende Umrötungswerte, anschließend ein leichter Anstieg zu verzeichnen.

Auch die Wiederholung des Versuchs zeigte, daß die nach eintägiger Lagerung erhitzten Proben gegenüber den unmittelbar nach dem Vermischen erhitzten Chargen z.T. eine wesentlich niedrigere Umrötung aufwiesen. Die in Tabelle 8 beobachtete Tendenz bei den einzelnen Chargen konnte nur teilweise bestätigt werden. Die gefundenen Werte bewegen sich annähernd im gleichen Bereich.

7.6 Versuchsreihe III

7.6.1 Einfluß von pH-Wert und verschiedenen Umrötungshilfsstoffen ohne Nitritpökelsalzzusatz nach Erhitzen auf 80 °C

Vorbereitung der Blutproben sowie die Untersuchung der erhitzten Chargen erfolgte wie im vorhergehenden Versuch. Bei den Chargen I bis V wurde der pH-Wert mittels fein gepulverter Citronensäure und pH-Meter auf pH 5,7 eingestellt.

Die einzelnen Chargen (pro 100 g Blut) setzten sich wie folgt zusammen:

Charge I	0,05 g	Glutamat
	0,05 g	Natriumascorbat
	ca. 0,325 g	Citronensäure

Tabelle 7: Einfluß von Temperatur, Lagerungszeit und Umrötungshilfstoffen auf die Bildung von Pökelfarbstoff in Blut (12,0 g Hb/100 g Blut, pH 7,6 und 8,3 ppm Nitrat) ohne Nitritpökelsalzzusatz bei + 1° C

Lagerungszeit in Tagen	pH-Wert						prozentuale Umrötung					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Charge I	7,6	7,7	7,7	7,8	7,9	7,9	2,2	2,3	1,6	3,0	2,9	3,1
Charge II	7,6	7,7	7,7	7,8	8,1	8,0	2,4	3,2	1,3	2,0	1,8	2,4
Charge III	7,1	7,3	7,3	7,4	7,5	7,6	2,1	1,7	2,0	2,3	1,9	2,3
Charge IV	7,6	7,7	7,7	7,8	7,9	7,9	3,0	4,9	1,6	2,6	2,4	3,5
Charge V	7,6	7,8	7,8	7,8	8,0	8,1	3,0	3,4	2,6	3,2	2,0	2,5
Charge VI	7,6	7,7	7,7	7,6	7,7	7,7	2,1	3,4	1,2	2,0	1,9	2,1

!
t
w
!

Tabelle 8: Einfluß von Temperatur, Lagerungszeit und Umrötungshilfstoffen auf die Bildung von Pökelfarbstoff in Blut (12,0 g Hb/100 g Blut, pH 7,6 und 8,3 ppm Nitrat) ohne Nitritpökelsalzzusatz nach Erhitzung auf 80° C

Lagerungszeit in Tagen	prozentuale Umrötung					
	0	1	2	3	4	5
Charge I	62,2	24,1	51,3	21,0	40,0	43,6
Charge II	58,1	37,5	32,0	79,0	51,7	40,0
Charge III	46,2	31,8	33,4	47,9	31,2	30,6
Charge IV	50,2	33,6	34,0	55,4	26,8	47,1
Charge V	59,7	33,6	35,6	48,9	56,2	43,5
Charge VI	54,3	37,8	55,0	53,2	61,9	61,3

Tabelle 9: Einfluß von Temperatur, Lagerungszeit und Umröthungshilfstoffen auf die Bildung von Pökelfarbstoff in Blut (12,0 g Hb/100 g Blut, pH 7,9 und 7,7 ppm Nitrat) ohne Nitritpökelsalzzusatz nach Erhitzung auf 80° C

Lagerungszeit in Tagen	pH-Wert						Prozentuale Umrötung					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Charge I	7,8	7,9	7,8	8,0	8,0	7,9	56,1	26,4	47,7	57,7	57,2	45,2
Charge II	7,7	7,9	7,9	7,9	8,0	8,0	43,8	30,6	50,0	48,8	38,7	52,0
Charge III	7,3	7,4	7,4	7,6	7,6	7,7	26,7	17,7	38,8	42,4	31,6	51,5
Charge IV	7,7	7,8	7,9	7,9	7,9	8,0	50,2	32,9	46,5	68,4	58,1	69,0
Charge V	7,7	7,9	7,9	8,0	8,0	8,0	51,1	21,9	59,2	66,1	51,3	67,8
Charge VI	7,9	7,8	7,8	7,7	7,2	7,3	53,2	47,4	58,9	70,0	55,3	51,9

1
4
5
1

Charge II	0,0382 g	Cystein
	0,05 g	Natriumascorbat
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge III	0,01 g	Nicotinsäureamid
	0,05 g	Natriumascorbat
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge IV	0,05 g	Natriumascorbat
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge V	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge VI	0,05 g	Glutamat
Charge VII	0,0382 g	Cystein
Charge VIII	0,01 g g	Nicotinsäureamid

7.6.2 Ergebnisse (Siehe Tabelle 10)

Bei den mit Citronensäure auf pH 5,7 eingestellten Proben stieg der pH-Wert im Verlauf der Lagerung bis auf Charge I auf höchstens 5,9 an. Beim Vergleich der Chargen I - V mit VI - VIII läßt sich kein pH-abhängiger Einfluß auf die Umrötungswerte erkennen, jedoch war ab dem 3. Tag ein stärkerer Abfall festzustellen, der bei den Chargen ohne Citronensäure erst am 5. Tag nachzuweisen war. Außerdem hatten die Proben mit Citronensäurezusatz immer eine heller rote Farbe. Chargen VI und VIII, die ausschließlich mit Glutamat bzw. Nicotinsäureamid versetzt waren, wiesen, abgesehen vom 5. Tag, gute und relativ konstante Umrötungswerte auf.

7.7 Versuchsreihe IV

7.7.1 Einfluß von pH-Wert und Cystein auf Bildung und Stabilität von Pökelfarbstoff in Blut mit Nitritpökelsalz- bzw. Kochsalzzusatz nach Erhitzung auf 80 °C

Vorbereitung und Behandlung der Proben vollzogen sich wie in Versuchsreihe III. Die Bestimmung von pH-Wert und prozentualer Umrötung erfolgten unmittelbar nach Vermischen und Erhitzen sowie nach 3-, 6- und 7tägiger Lagerung der erhitzten Proben bei +1 °C.

Tabelle 10: Einfluß von pH-Wert und verschiedenen Umrötungshilfsstoffen auf die Bildung von Pökelfarbstoff in Blut (12,5 g Hb/100 g Blut, pH 7,7 und 8,0 ppm Nitrat) ohne Nitritpökelsalzzusatz nach Erhitzung auf 80° C

Lagerungszeit in Tagen	pH-Wert						prozentuale Umrötung					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Charge I	5,7	5,8	5,9	6,0	6,0	6,1	48,2	34,5	36,0	27,7	22,7	16,7
Charge II	5,7	5,7	5,7	5,7	5,8	5,8	49,5	36,8	49,0	31,8	27,1	14,8
Charge III	5,7	5,8	5,8	5,8	5,9	5,9	50,1	45,3	44,0	34,0	30,0	14,5
Charge IV	5,7	5,7	5,7	5,8	5,9	5,9	52,3	30,4	39,2	22,1	18,2	19,3
Charge V	5,7	5,7	5,7	5,7	5,8	5,9	41,1	45,2	45,8	28,6	18,2	22,9
Charge VI	7,6	7,9	8,0	7,9	8,0	7,9	46,5	44,8	63,9	63,9	59,2	18,7
Charge VII	7,7	7,9	7,9	8,0	8,0	8,1	67,5	36,5	36,5	63,6	45,4	30,9
Charge VIII	7,6	7,9	7,9	8,0	8,0	7,9	63,6	55,3	41,1	45,2	49,5	35,5

Die einzelnen Chargen (pro 100 g Blut) setzten sich wie folgt zusammen:

Charge I	2,0 g	Nitritpökelsalz
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge II	2,0 g	Kochsalz
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge III	2,0 g	Nitritpökelsalz
	0,0382 g	Cystein
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge IV	2,0 g	Kochsalz
	0,038 g	Cystein
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge V	ca. 0,325 g	Citronensäure

7.7.2 Ergebnisse (Siehe Tabelle 11)

Es bestehen keine wesentlichen Unterschiede in der prozentualen Umrötung zwischen den Chargen mit Kochsalz bzw. Nitritpökelsalz. Die Umrötungswerte sind relativ niedrig und zeigen bei den Chargen I - IV am 6. Lagerungstag einen starken Abfall, während bei der Charge V mit ausschließlichem Citronensäurezusatz nach 3 Tagen Lagerung ein leichter Anstieg von 18,3 auf 25,8 % nachzuweisen ist und auch nach 7 Tagen Lagerung noch besteht.

7.8 Versuchsreihe V

7.8.1 Umrötung und Farbstabilität einer Blut-Schwartenmasse in Abhängigkeit verschiedener Zusätze und Lagerungszeiten

Nach Bestimmung von pH-Wert, Hämoglobin und Nitrat (12,4 g Hb/100 g Blut, pH 8,0 und 7,9 ppm Nitrat) wurden in braune Weithals-Standflaschen 150 g Blut eingewogen, mit den jeweiligen Zusätzen versetzt und offen 2 Minuten elektromagnetisch gerührt. Die pH-Einstellung auf 6,0 erfolgte mittels pH-Meter und Citronensäure.

Die einzelnen Proben (pro 100 g Blut) setzten sich wie folgt zusammen:

Charge I	2,0 g	Nitritpökelsalz
	0,05 g	Glutamat
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge II	0,05 g	Glutamat
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge III	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge IV	0,382 g	Cystein
	ca. 0,325 g	Citronensäure
Charge V	2,0 g	Kochsalz
	ca. 0,325 g	Citronensäure

Nach ein, zwei und drei Tagen Lagerung bei +1 °C wurde das Blut zur Herstellung der Blut-Schwartenmasse verwendet. Die Blut-Schwartenmasse setzte sich jeweils aus 150 g Blut, 100 g Schwarten und 100 g Wasser zusammen.

Weitgehend fettfreie, gekochte Schwarten wurden im Tischkutter zerkleinert und mit der jeweiligen Blutprobe, die zuvor auf 40 °C erwärmt worden war, und heißem Wasser gründlich vermengt. Nach Füllung in luftdicht verschließbare Gläser wurde die Masse 45 Minuten bei 80 °C erhitzt.

7.8.2 Ergebnisse (Siehe Tabellen 12, 13, 14)

Der pH-Wert der Blut-Schwartenmasse, bei der das Blut 48 bzw. 72 Stunden umrötete, lag gegenüber den Proben mit nur 24 Stunden Umrötungszeit um 0,3 bis 0,5 Einheiten höher. Zwischen den einzelnen Chargen und auch den Ansätzen mit unterschiedlich langer Umrötungszeit bestanden nur geringe Unterschiede in der prozentualen Umrötung. Bei Charge V (Kochsalz und Citronensäure) scheint sich jedoch am meisten Pökelfarbstoff gebildet zu haben. Sämtliche Proben wiesen über die gesamte Lagerzeit eine gute Farbstabilität auf.

Tabelle 11: Einfluß von pH-Wert und Cystein auf Bildung und Stabilität von Pökelfarbstoff in Blut (12,4 g Hb/ 100 g Blut, pH 8,0 und 7,9 ppm Nitrat) mit Nitrit-pökelsalz- bzw. Kochsalzzusatz nach Erhitzung auf 80 °C

Charge	pH	prozentuale Umrötung			
		Tage nach der der Herstellung			
		0	3	6	7
I	6,0	14,9	11,9	5,4	4,8
II	6,0	13,5	13,0	5,4	6,5
III	6,0	9,8	13,4	5,3	6,8
IV	6,0	11,6	14,3	6,4	6,1
V	6,0	18,3	25,8	26,9	25,0

Tabelle 12: Prozentuale Umrötung und Farbstabilität der Blut-Schwartenmasse nach 24 Stunden Umrötung

Charge	pH	prozentuale Umrötung			
		Tage nach der der Herstellung			
		1	3	5	7
I	6,3	12,0	11,9	13,2	11,0
II	6,2	14,9	9,2	12,1	11,0
III	6,3	12,7	9,2	11,5	9,9
IV	6,3	12,3	13,1	11,6	12,4
V	6,4	13,9	9,8	13,0	13,1

Tabelle 13: Prozentuale Umrötung und Farbstabilität der Blut-Schwartenmasse nach 48 Stunden Umrötung

Charge	pH	prozentuale Umrötung			
		Tage nach der der Herstellung			
		1	3	5	7
I	6,3	12,0	11,9	13,2	11,0
II	6,2	14,9	9,2	12,1	11,0
III	6,3	12,7	9,2	11,5	9,9
IV	6,3	12,3	13,1	11,6	12,4
V	6,4	13,9	9,8	13,0	13,1

Tabelle 14: Prozentuale Umrötung und Farbstabilität der Blut-Schwartenmasse nach 72 Stunden Umrötung

Charge	pH	prozentuale Umrötung			
		Tage nach der der Herstellung			
		1	3	5	7
I	6,4	15,4	15,1	14,9	15,0
II	6,3	15,0	15,0	9,8	12,0
III	6,5	13,8	13,6	12,0	11,9
IV	6,4	12,0	12,7	11,7	11,9
V	6,5	16,9	15,0	15,5	13,5

IV. DISKUSSION

Insbesondere bei hochoverhitzten Blutwurstkonserven werden häufig Farbmängel beobachtet (123). Auch unter 100 °C erhitzte Blutwurst-Erzeugnisse, deren Blutanteil 20 % übersteigt, zeigen oft eine unbefriedigende Pökelfarbe. Nach WIRTH (123) beruhen Farbprobleme bei Blutwurst-Erzeugnissen hauptsächlich auf dem Mißverhältnis zwischen Hämoglobin und Pökelfarbstoffen. Der Vergleich Myoglobingehalt im Muskelfleisch und Hämoglobingehalt im Blut ergab, daß der durchschnittliche Hämoglobingehalt (862 $\mu\text{mol Fe}/100\text{ g Blut}$) etwa das 25-fache des mittleren Pigmentgehaltes im Rindfleisch (34,11 $\mu\text{mol}/100\text{ g Fleisch}$) beträgt (zit. nach 71). Demnach würde Blut eine vergleichbare Nitritmenge von 375 mg $\text{NaNO}_2/100\text{ g Blut}$ erfordern (71), während nach SZAKALY (112) für Fleisch 25 mg/kg für die optimale Farbbildung ausreichen. Untersuchungen von MÖHLER und BAUMANN (71) zeigten jedoch, daß nicht 300 mg $\text{NaNO}_2/100\text{ g Blut}$, sondern bereits 150 mg/100 g das Umrötungsmaximum lieferten. Jedoch liegt auch diese Konzentration weit über der in der Praxis höchstmöglichen Zusatzmenge von 30 g Nitritpökelsalz/1000 g Blut (18 mg $\text{NaNO}_2/100\text{ g}$). Eine Steigerung der Umrötung und die Stabilisierung der gebildeten Pökelfarbe sind daher nur über eine besondere Vorbehandlung und durch Zusatz von umrötungsfördernden Hilfsstoffen möglich.

Die von der Praxis gelieferten Empfehlungen über die Vorbereitung von Blut zur Herstellung von Blutwurst-Erzeugnissen sind sehr unterschiedlich. So schlägt WIELAND (122) zur Erzielung einer hellroten, ansprechenden Blutwurstfarbe vor, das Blut nicht vorzusalzen, sondern das Nitritpökelsalz erst unmittelbar vor dem Vermischen mit den anderen Bestandteilen zuzusetzen. Auch nach WIRTH (124) ist für die Herstellung von "Frischwurst" eine Vorpökung des Blutes nicht notwendig. Muß Blut jedoch aus arbeitstechnischen Gründen 1 - 2 Tage aufbewahrt werden, soll die Anreicherung mit Sauerstoff von Vorteil sein. Diese Empfehlung wird auch von anderen Autoren (50, 97, 122) gegeben. SCHEID (97) begründet das "Aufschlagen" des Blutes als notwendige Maßnahme, um abgesetzte rote Blutkörperchen mit den anderen Blutbestandteilen zu vermischen

und um das Blut "hellfarbig" zu machen. Das hellrote, oxigenierte Blut muß aber nicht zwangsläufig auch eine höhere Umrötung aufweisen. In den Untersuchungen von MÖHLER und BAUMANN (71) lagen die Unterschiede in der Umrötung zwischen unbehandeltem und sauerstoffbehandeltem Blut im üblichen Schwankungsbereich. In vorliegenden Versuchen konnte jedoch sowohl bei rohen als auch bei erhitzten Proben, die mit Sauerstoff angereichert worden waren, eine höhere prozentuale Umrötung nachgewiesen werden. Der umrötungssteigernde Effekt von Sauerstoff könnte darauf zurückzuführen sein, daß O_2 die Bildung von Methämoglobin bzw. Methämoglobinnitrit und somit auch den Reaktionsverlauf der Stickoxidhämoglobinbildung beschleunigt. Die von MÖHLER und BAUMANN (71) bei sauerstoffangereichertem Blut beobachtete verstärkte Nitratbildung und der geringere effektive Nitritverbrauch konnten nicht bestätigt werden.

Neben der Sauerstoffanreicherung kann weiterhin empfohlen werden, Blut einige Tage vorzupökeln, wobei jedoch in Abhängigkeit der verwendeten Hilfsstoffe die verschiedenen optimalen Verarbeitungszeitpunkte zu beachten sind.

Während bei Fleisch die durchschnittliche Umrötung bei 64 % liegt (zit. nach 71), erzielten MÖHLER und BAUMANN (71) bei Blut Umrötungswerte zwischen 25 und 38 %. Obwohl in der Kälte die Bildung des Pökelfarbstoffes verzögert abläuft, lag in den eigenen Versuchen die höchste prozentuale Umrötung bei 42,2 %. Durch Einwirkung von Hitze wird die Reaktion jedoch stark beschleunigt (30, 40, 112). Wenn in Versuchsreihe 1 (Tabellen 3 und 4) die erhitzten Proben trotzdem eine niedrigere Umrötung aufweisen, so dürfte dies auf hitzeokoagulationsbedingte Veränderungen des Blutes, die sich in einer Verminderung der Extinktion des Aceton-HCl-Extraktes äußern, zurückzuführen sein. Die Anwesenheit von Nitrit soll diese Erscheinung noch verstärken. Weiterhin wird ein langsamer Abbau des Pökelfarbstoffes bei höherer und längerer Temperatureinwirkung infolge sekundärer Oxidationsreaktionen diskutiert (71).

Die Ergebnisse der Versuchsreihe II, in der Blut ohne Nitritpökelsalz in der Kälte weniger, jedoch nach der Erhitzung sehr hohe Umrötungswerte im Vergleich zu Versuchsreihe I aufwies, könnten die Bedeutung von Nitrit als Hämochromogenbildner in Frage stellen. Da

das verwendete Blut aber 8,3 ppm Nitrat enthielt, das mikrobiell zu Nitrit abgebaut werden kann, stand eine geringe Menge Pökelfarbstoff zur Verfügung. Außerdem dürfte die für die Bestimmung der prozentualen Umrötung gewonnene Acetonlösung neben Stickoxidhämoglobin bzw. Stickoxidhämochromogen auch Hämoglobinderivate, z.B. HbO_2 bzw. HbCO enthalten, deren Absorptionsmaxima zwischen 541 und 577 bzw. 539 und 570 nm liegen (32).

Die Menge des gebildeten Pökelfarbstoffes wird durch das Vorhandensein reduzierender Substanzen entscheidend beeinflusst (26, 69, 71). So konnten MÖHLER und BAUMANN (71) durch Zusatz von 400 mg Natriumascorbat auf 100 g Blut, das mit 150 mg NaNO_2 versetzt war, die Umrötung von 27 auf 100 % erhöhen. Da die Werte für die prozentuale Umrötung an den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten auch innerhalb einer Versuchsreihe starke Schwankungen aufwiesen, kann keine eindeutige Aussage über die Wirkung der verwendeten Zusatzstoffe auf die Umrötung gemacht werden. Bei der Bestimmung der prozentualen Umrötung muß außerdem mit einer sehr starken Streuung der Werte gerechnet werden (71).

Die Umrötung kann durch Erhöhung der H-Ionenkonzentration gesteigert werden. Bei Blut soll der optimale pH-Wert bei 6 liegen. Eine weitere pH-Verschiebung in den sauren Bereich vermindert im Gegensatz zu Fleisch die Bildung von Pökelfarbstoff (69, 71). Die Ergebnisse von Versuchsreihe III und IV, bei denen der pH-Wert mittels Citronensäure auf 5,7 bzw. 6,0 eingestellt worden war, zeigten jedoch bis auf Charge V der Versuchsreihe IV keinen pH-bezogenen Effekt auf die Umrötung. Da sämtliche Blutproben mit Zitronensäurezusatz eine kräftig hellrote Farbe aufwiesen, andererseits die Umrötungswerte in Versuch V (Tabelle 11) ziemlich niedrig lagen, sollte die Bestimmung der prozentualen Umrötung zur Objektivierung der Pökelfarbe in Blut nur als ergänzende Methode betrachtet werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Im Literaturteil werden Hämoglobin, dessen aus medizinischen und technologischen Gesichtspunkten wichtige Reaktionspartner, die Vorgänge bei der Umrötung von Fleisch und Blut sowie deren Beeinflussung und die Toxikologie der Pökelfarbstoffe besprochen.
2. Die Empfehlung der Praxis, Blut vor der Weiterverarbeitung mit Sauerstoff anzureichern, damit eine kräftige, hellrote Farbe erzielt wird, konnte über die Bestimmung der prozentualen Umrötung bestätigt werden. Weiterhin erhöht sich durch mehrtägiges Vorpökeln des Blutes die Menge an Pökelfarbstoff.
3. Obwohl Hitzeeinwirkung die Umrötungsprozesse begünstigt, wiesen die erhitzten Proben bei Anwesenheit von Nitritpökelsalz eine niedrigere Umrötung auf als die rohen Proben. Als Ursache wird eine hitzecoagulationsbedingte Veränderung des Blutes angenommen, durch die sich die Extraktion des Aceton-HCl-Extraktes verringert.
4. Die in Form von Nitritpökelsalz dem Blut zugesetzten 120 ppm NaNO_2 waren innerhalb von zwei Tagen auf wenigstens 2,5 ppm abgebaut oder nicht mehr nachweisbar bzw. zu Nitrat oxidiert.
5. Bei Blut ohne Zusatz von Nitritpökelsalz wurde nach der Erhitzung eine beachtlich hohe prozentuale Umrötung nachgewiesen. Dies könnte mit dem in Blut vorhandenen Nitrat sowie mit dem Vorliegen von Hämoglobinderivaten im Acetonextrakt, deren Absorptionsmaxima im gleichen Bereich wie die von Stickoxidhämoglobin bzw. Stickoxidhämochromogen liegen können, erklärt werden.
6. Die als Pökelfarbstoffe eingesetzten Substanzen (Natriumascorbat, Cystein, Glucono-delta-Lacton, Glucose, Lactose, Nicotinsäureamid, Glutamat) bewirkten weder einzeln noch in Kombination eine gesicherte Erhöhung der Umrötung.
7. Durch Einstellen des pH-Wertes mittels Citronensäure auf 5,7 bzw. 6,0 war ebenfalls keine Steigerung der Umrötung zu erreichen. Die Proben zeichneten sich jedoch durch eine kräftige hellrote Farbe aus.

8. Die Objektivierung der Föckelfarbe von Blut durch Bestimmung der prozentualen Umrötung sollte infolge der Schwankungsbreite durch physikalische Meßmethoden ergänzt werden.

SUMMARY

1. Literature describes the hemoglobin processes of cured meat products and blood as well as its effects and the toxicity of nitrite and N-nitroso compounds from the medical and technological point of view.
2. The recommendation to mix the blood with oxygen in order to obtain a light red colour was confirmed by the estimation of nitric oxide-hempigments. Furthermore, a higher amount of curing pigments was maintained by adding sodium nitrite to the blood over a period of several days.
3. Although heating catalyses the process of the formation of curing pigments, the heated samples, when sodium nitrite is added, showed a lower content of nitric oxide-hempigments than the raw samples. It is assumed that the cause for this is a coagulation of the blood by the heating, by which the extraction of acetone HCl extract is lowered.
4. 120 ppm sodium nitrite added via nitrite curing salt was reduced to 2,5 ppm within 2 days, or was no longer determinable respectively oxidated into nitrate.
5. When the blood was heated without sodium nitrite, a surprisingly high content of nitric oxide-hempigments could be found. The reason for this was the presence of nitrate in the blood as well as hemoglobinderivates in the acetone extract, the maximum absorption of which lies in the same region as that of nitroso-hemoglobin or nitroso-hemochrome.
6. Sodium ascorbate, cysteine, glucono-delta-lactone, glucose, lactose, nicotinic acid amide, monosodium glutamate, when added singularly or together to the blood for colour production were not able to safely increase the formation of curing pigments.
7. When the pH was adjusted by adding citric acid to 5,7 or 6,0 there was still no increse in the nitric oxide-hempigment content. The samples, however, had a light red colour.

8. The estimation of the nitric oxide hemipigments in the blood should be completed by further physic tests because of fluctuation.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adams, J.R., und D.L. Huffmann:
Effect of controlled gas atmospheres and temperatures on
quality of packaged pork.
J. Food Sci. 37 (1972), 869
2. Auterhoff, H., und K. Hildenbrand:
Zur Beurteilung von Fleisch und Wurstwaren aufgrund des
Schwefelgehaltes.
Z. Lebensm.Unters.Forsch. 115 (1961), 10
3. Baird-Parker, A.C., und M.A.H. Baillie:
The inhibition of clostridium botulinum by nitrite and
sodiumchloride.
Proc. int. Symp. Nitrite Meat Prod., Zeist 1973, 77
4. Bartels, H., H.-J. Klare und P. Wöhner:
Verlängerung des Frischezustandes beim Vertrieb portionier-
ten Frischfleisches.
Fleischwirtschaft 52 (1972), 816
5. Barton, P.A.:
Measurement of colour stability of cooked cured meats to
light and air.
I. Development of method.
J. Sci. Food Agric. 18 (1967), 298
6. Bauer, K.H.:
Das Krebsproblem.
2. Aufl.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963
7. Betke, K., I. Greinacher und O. Tietze:
Oxydation menschlichen und tierischen Oxyhämoglobins durch
Natriumnitrit.
Arch. exp. path. pharmak. 229 (1956), 220

8. Clar, D.S., und C.P. Lentz:
Use of carbon dioxide and oxygen for extending shelf-life
of prepacked fresh beef.
18th Europ. Meet. of Meat Res. Workers, Toronto 1972,
Paper P, 390
9. Clydesdale, F.M., und F.J. Francis:
The chemistry of meat color.
Food Product Developm. 5 (1971), 81
10. Cutaia, A.J., und Z.J. Ordal:
Pigment changes in anaerobically packaged ground beef.
Food Technol. 18 (1964), 163
11. Dooley, C.J., A.E. Wasserman und S. Osman:
A contaminant in N-nitrosodimethylamine confirmation by
high resolution mass spectrometry.
J. Food Sci. 38 (1973), 1096
12. Druckrey, H., A. Schildbach, D. Schmährl, R. Preußmann und
S. Ivankovic:
Quantitative Analyse der carcinogenen Wirkung von Diäthyl-
nitrosamin.
Arzneimittelforschung 13 (1963), 841
13. Eddy, B.P., D.P. Gatherum und A.G. Kitchell:
Bacterial metabolism of nitrate and nitrite in maturing
bacon.
J. Sci. Food Agric. 11 (1960), 727
14. El-Badawi, A.A., R.F. Cain, C.E. Samuels und A.F. Anglemeier:
Colour and pigment stability of packaged refrigerated beef.
Food Technol. 18 (1964), 159
15. Ender, F. und L. Ceh:
Conditions and chemical reaction mechanisms by which
nitrosamines may be formed in biological products with
reference to their possible occurrence in food products.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 145 (1971), 135

16. Erben, J.:
Bestimmung von Nitrit.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 141 (1969/70), 229
17. Evelyn, K.A., und H.T. Malloy:
Microdetermination of oxihemoglobin, methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood.
J. Biol. Chem. 126 (1938), 655
18. Fan, T.Y., und S.R. Tannenbaum:
Stability of N-nitroso compounds.
J. Food Sci. 37 (1972), 274
19. Fiddler, W., J.W. Pensabene und I. Kushmir:
Effect of Frankfurter cure ingredients on N-nitroso-dimethylamine formation in model system.
J. Food Sci. 38 (1973), 714
20. Fiddler, W., J.W. Pensabene und E.G. Piotrowski:
Use of sodium ascorbate or erythorbate to inhibit formation of N-nitroso-dimethylamine in Frankfurters.
J. Food Sci. 38 (1973), 1084
21. Flaschenträger, B., E. Lehnartz und H.W. Berendt:
Physiologische Chemie.
Bd. II/1a
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954
22. Follett, M.J., und P.W. Ratcliff:
Determination of nitrite and nitrate in meat products.
J. Sci. Food Agric. 14 (1963), 138
23. Forget, P.:
Les nitrate-réductases bactériennes: solubilisation, purification et propriétés de l'enzyme A de micrococcus denitrificans.
Europ. J. Biochem. 18 (1971), 442
24. Fournaud, J., P. Salé und C. Valin:
Conservation de la viande bovine sous emballage plastique, sous vide ou en atmosphère contrôlées.
Aspects biochimiques et microbiologiques.

25. Fox, J.B., W.E. Townsend, S.A. Ackerman und C.E. Swift:
Dured colour development during Frankfurter Processing.
Food Technol. 21 (1967), 386
26. Fox, J.B., und S.A. Ackerman:
Formation of nitric oxide myoglobin: Mechanisms of the
reaction with various reductants.
J. Food Sci. 33 (1968), 364
27. Frouin, A, M. Thenot und D. Jondeau:
Study on nitrosoheme photodecomposition (cured meat pigment).
20th Europ. Meet. Meat Res. Workers, Dublin 1974,
Abstracts & Communications S. 85
28. Gerhard, U., und S. Haller:
Nitrat- und Nitritgehaltsbestimmung in GdL-haltigen
Rohwürsten.
Fleischwirtschaft 53 (1973), 548
29. Götze, U.:
Bestimmung von Myoglobin und Hämoglobin in Fleischextrakt
von Schlachttieren.
Fleischwirtschaft 49 (1969), 901
30. Grau, R.:
Eigenschaften des Fleisches.
in: Schormüller, J.: Handbuch der Lebensmittelchemie.
Bd. III/2
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1968, S. 1036
31. Grau, R.:
Fleisch und Fleischwaren.
2. Aufl.
Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg 1969
32. Hamm, R.:
Hämoglobin.
in: Schormüller, J.: Handbuch der Lebensmittelchemie.
Bd. I
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1969, S. 749

33. Hamm, R.:
Glucono-delta-Lacton: Eigenschaften - Wirkungsweise -
Zulässigkeit.
Fleischwirtschaft 46 (1966), 512
34. Havemann, R., F. Jung und B. von Issekutz jun.:
Die Bestimmung von Methämoglobin im Blut mit dem licht-
elektrischen Kolorimeter.
Biochem. Z. 301 (1939), 116
35. Heyns, K.:
Über Nitrosamine in der Nahrung.
Getreide, Mehl u. Brot 27 (1973), 249
36. Hood, D.E.:
Factors affecting the accumulation of metmyoglobin in
prepackaged beef.
17th Europ. Meet. Meat Res. Workers, Bristol 1971, n₅
37. Hood, D.E.:
The inhibitory effect of intravenously administered sodium
ascorbate on the discolouration of fresh beef.
20th Europ. Meet. Meat Res. Workers, Dublin 1974,
Abstracts & Communications S. 159
38. Hornsey, H.C.:
The colour of cooked cured pork.
I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments.
J. Sci. Food Agric. 7 (1956), 534
39. Hornsey, H.C.:
The colour of cooked cured pork.
II. Estimation of the stability to light.
J. Sci. Food Agric. 8 (1957), 547
40. Hornsey, H.C.:
The colour of cooked cured pork.
III. Distribution and relationship of pigments, pH and
cysteine.
J. Sci. Food Agric. 10 (1959), 114

41. Jänig, G.R., und F. Jung:
Über die Reaktion zwischen Hämoglobin und Natriumnitrit.
Acta biol. med. germ. 25 (1970), 355
42. Jung, F., und H. Remmer:
Über die Umsetzung zwischen Nitrit und Hämoglobin.
Arch. exp. path. pharmak. 206 (1949), 459
43. Jung, F., H. Rein, O. Ristau und E. Kupfer:
Nitrosohämoglobin bei der Nitritvergiftung.
Acta biol. med. germ. 19 (1967), 1003
44. Jung, R., und R. Kahl:
Über die Reaktion zwischen Hämoglobin und Natriumnitrit.
Acta biol. med. germ. (1968), 854
45. Jung, , F., und R. Kahl:
Über die Reaktion zwischen Hämoglobin und Natriumnitrit.
Acta biol. med. germ. 23 (1969), 604
46. Kampschmidt, F.R.:
Effect of wave length of light on discoloration of cured
meat.
J. Agric. Food Chem. 3 (1955), 510
47. Karlson, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
5. Aufl.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1966
48. Kendrick, L.J., und M.W. Betty:
Nicotinamide and nicotinic acid in colour preservation
of fresh meat.
J. Food Sci. 34 (1969), 292
49. Klare, H.-J.:
Stabile Umrötung von Fleischerzeugnissen bei reduziertem
Nitritgehalt insbesondere bei Brühwurst.
Fleischwirtschaft 54 (1974), 39

50. Koch, H.:
Die Fabrikation feiner Fleisch- und Wurstwaren.
14. Aufl.
Verlagshaus Sponholz, Frankfurt/Main 1959
51. Kiozumi, C., und W.D. Brown:
Formation of nitric oxide myoglobin by nicotinamide
adenine dinucleotides and flavins.
J. Food Sci. 36 (1971), 1105
52. Koller, R.:
Salz, Rauch und Fleisch.
Theorie und Praxis des Pökeln und Räucherns.
Verlag "Das Bergland-Buch", Salzburg 1941
53. Kotter, L.:
Grundsätzliches über das Wesen des Pökeln.
Vieh- und Fleischwirtschaft 1954, 157
54. Kotter, L., O. Prändl, B. Rolle und G. Terplan:
Zur Verwendung von Nitritpökelsalz und Salpeter bei der
Fleischverarbeitung. Ist eine Änderung des Nitritgesetzes
notwendig?
Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 217
55. Kotter, L., und G. Terplan:
Neue Erkenntnisse bei der Herstellung von Fleischwaren
unter besonderer Berücksichtigung der verfügbaren und
der zulassungsbedürftigen Zusatzstoffe.
Arch. Lebensmittelhyg. 12 (1961), 169
56. Kotter, L., A. Palitzsch und W. Kundrat:
Zur Bedeutung von GdL bei der Reifung von Rohwurst.
Fleischwirtschaft 49 (1969), 321
57. Kraft, A.A., und J.C. Ayres:
Effect of display case lighting on color and bacterial
growth on packaged fresh beef.
Food Technol. 8 (1954), 290

58. Kroes, R., G.J. van Esch und J.W. Weiss:
Philosophy of "no effect level" for chemical carcinogens.
Proc. int. Symp. Nitrite Meat Prod., Zeist 1973, S. 227
59. Krylowa, N.N., und Ju.N. Ljaskowskaja:
Biochemie des Fleisches.
VEB Fachbuchverlag, Leipzig 1972
60. Landrock, A.H., und G.A. Wallace:
Discoloration of fresh red meat and its relationship to
film oxygen permeability.
Food Technol. 9 (1955), 194
61. Lewin, L.:
Gifte und Vergiftungen.
Lehrbuch der Toxikologie.
Karl F. Haug Verlag, Ulm 1962
62. Lijinsky, W., E. Conrad und R. van de Bogart:
Carcinogenic nitrosamines formed by drug.
Nitrite interactions.
Nature 239 (1972), 165
63. Lijinsky, W., H.W. Taylor, C. Snyder und P. Nettesheim:
Possible link between incidence of lung and liver tumours
and ingestion of amines with nitrite. Malignant tumours
of liver and lung in rats fed aminopyrine or heptame
thyleneimine together with nitrite.
Nature 244 (1973), 176
64. Maaß, H.:
In welcher Weise verbessern Nicotinsäure und/oder Ascorbin-
säure die natürliche Fleischfarbe?
Dt. Lebensm.-Rdsch. 51 (1955), 23
65. MacDougall, D.B.:
The colour stability of vacuum packed Wiltshire bacon
cured with diminishing quantities of nitrite.
20th Europ. Meet. of Meat Res. Workers, Dublin 1974,
Abstracts & Communications S. 153

68. Möhler, K.:
Bilanz der Bildung des Pökelfarbstoffs im Muskelfleisch.
I. Mitt.: Oxydation von Muskelpigment und Nitrit.
Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch. 142 (1970), 169
69. Möhler, K.:
Bilanz der Bildung des Pökelfarbstoffs im Muskelfleisch.
II. Mitt.: Hitzekatalysierte Bildung des Stickoxydkomplexes.
Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch. 147 (1971/72), 123
70. Möhler, K., und H. Ebert:
Reaktionsprodukte von Nitrit in Fleischerzeugnissen.
Nachweis und Bestimmung von Distickstoffoxyd.
Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch. 147 (1971/72), 251
71. Möhler, K., und M. Baumann:
Bildung von Pökelfarbstoff im Blut durch die Einwirkung
von Natriumnitrit auf Hämoglobin.
Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch. 147 (1971/72), 258
72. Niinivaara, F.P.:
Über den Einfluß von Bakterienkulturen auf die Reifung
und Umrötung der Rohwurst.
Fleischwirtschaft 7 (1955), 603
73. Niinivaara, F.P., und M.S. Pohja:
Die in Rohwurst vorkommenden Bakterien und ihre Bedeutung
im Reifungsprozeß.
Fleischwirtschaft 9 (1957), 264
74. Niinivaara, F.P., und M.S. Pohja:
Erfahrungen bei der Herstellung von Rohwurst mit Bakterien-
reinkulturen.
Fleischwirtschaft 9 (1957), 789
75. O'Keefe, M., D.E. Hood und M.G. Harrington:
Gas packaging: The effect of various gas atmospheres on
colour of fresh beef.
20th Europ. Meet. of Meat Res. Workers, Dublin 1974,
Abstracts & Communications S. 150

76. Pan, B.S., und M. Solberg:
The effect of pH on bovine oximyoglobin structure and stability.
J. Food Sci. 37 (1972), 29
77. Partmann, W., H.K. Frank und J. Gutschmidt:
Das Lagerungsverhalten von Fleisch in geregelten Gasatmosphären bei +7 °C.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1067
78. Partmann, W., H.K. Frank und J. Gutschmidt:
Lagerung von Fleisch in geregelten Gasatmosphären bei +3 °C.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1205
79. Patterson, R.L.S., und D.S. Mottram:
Some chemical studies on the nitrosamine problem with respect to bacon production.
20th Europ. Meet. of Meat Res. Workers, Dublin 1974,
Abstracts & Communications S. 77
80. Perutz, M.F., M.G. Rossmann, A.F. Cullis, H.U. Muirhead and G. Will:
A three-dimensional Fourier Synthesis at 5,5 Å resolution obtained by X-ray analysis.
Nature 185 (1960), 416
81. Pfeiffer, G., R. Wellhäuser und H. Gehra:
Das Verpacken von Frisch- und Gefrierfleisch aus technologischer Sicht.
Neue Verpackung 26 (1974), 41
82. Pfeil, E., und U. Liepe:
Zum Nitrosamin-Problem.
Fleischwirtschaft 53 (1973), 387
83. Pohja, M.S., A. Alivaara und O. Sorsavirta:
Die Einwirkung der Atmosphäre mit verschiedenen Konzentrationen von zugesetztem Kohlendioxid oder Stickstoff auf die Eigenschaften des kühlgelagerten Fleisches.
13th Europ. Meet. of Meat Res. Workers, Rotterdam 1967, B 8

84. Preussmann, R.:
Toxicity of nitrite and N-nitroso compounds.
Proc. int. Symp. Nitrite Meat Prod., Zeist 1973, S. 217
85. Rapoport, S.M.:
Medizinische Biochemie.
5. Aufl.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1969
86. Reith, J.F., und M. Szakaly:
Formation and stability of nitric oxide myoglobin.
J. Food Sci. 32 (1967), 188
87. Riermeier, H.:
Studien über die Verbesserung der Farbhaltung bei folien-
verpackten Brühwürsten, insbesondere in der erhitzten
Vakuumverpackung.
Diss. med. vet. München 1966
88. Rikert, J.A., C.O. Ball und E.F. Stier:
Factors effecting quality of prepackaged meat.
II. Color studies, D. Effects of nitrogen and carbon
dioxide under different pressures upon color of product.
Food Techn. 12 (1958), 17
89. Roberts, T.A.:
Inhibition of bacterial growth in model systems in relation
to the stability and safety of cured meats.
Proc. int. Symp. Nitrite Meat Prod., Zeist 1973, S. 91
90. Roy, A.K., R. Kahl und F. Jung:
Über die Reaktion zwischen Natriumnitrit und Hämoglobin.
Acta biol. med. germ. 22 (1969), 545
91. Ruiter, A.:
Determination of volatile amines and amine acids in
food products.
Proc. int. Symp. Nitrite Meat Prod., Zeist 1973, S. 37

92. Sander, J.:
Kann Nitrit in der menschlichen Nahrung Ursache einer Krebsentstehung durch Nitrosaminbildung sein?
Arch. Hyg. u. Bakt. 151 (1967), 22
93. Sander, J., F. Schweinberg und H. Menz:
Untersuchungen über die Entstehung cancerogener Nitrosamine im Magen.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 349 (1968), 1691
94. Sander, J.:
Formation of N-nitroso compounds in laboratory animals. A short review.
Proc. int. Symp. Nitrite Meat Prod., Zeist 1973, S. 243
95. Sander, J.:
Formation of nitroso compounds in man: Evaluation of the problem.
Proc. int. Symp. Nitrite Meat Prod., Zeist 1973, S. 251
96. Satterlee, L.D., und W. Hansmeyer:
The role of light and surface bacteria in the color stability of prepackaged beef.
J. Food Sci. 39 (1974), 305
97. Scheid, L.:
Kochwurst - Sülzwurst.
Anleitungen, Herstellungsverfahren und Rezepte.
1. Aufl.
Verlag Hans Holzmann, Bad Wörishofen 1967
98. Scheunert, A., und A. Trautmann:
Lehrbuch der Veterinär-Physiologie.
5. Aufl.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1965
99. Schormüller, J.:
Lehrbuch der Lebensmittelchemie.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-Göttingen 1961

100. Schormüller, J., E. Bayer und H.D. Belitz:
Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. I
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1965
101. Schormüller, J., F. Kiermeier, N. Antonacopoulos:
Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. III/2
Springer Verlag, Verlin-Heidelberg-New York 1968
102. Schormüller, J.:
Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. IV
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1970
103. Sebranek, J.G., und R.G. Cassens:
Nitrosamines: A review.
J. Milk and Food Technol. 36 (1973), 76
104. Sebranek, J.G., R.G. Cassens und W.G. Hoekstra:
¹⁵N tracer studies of nitrite added to a comminuted meat
product.
J. Food Sci. 38 (1973), 1220
105. Siedel, W.:
Pyrrolfarbstoffe.
in: Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der Physiologisch-
und Pathologisch-Chemischen Analyse.
Bd. IV/2, 10. Aufl.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960, S. 845
106. Snyder, H.E., und J.C. Ayres:
The autoxidation of crystallized beef myoglobin.
J. Food Sci. 26 (1961), 469
107. Snyder, H.E.:
Measurement of discoloration in fresh beef.
J. Food Sci. 29 (1964), 535
108. Snyder, H.E.:
Analysis of pigments at the surface of fresh beef with
reflectance spectrophotometry.
J. Food Sci. 30 (1965), 457

109. Snyder, H.E., und H.B. Skrdlant:
The influence of metallic ions on the autoxidation of
oxymyoglobin.
J. Food Sci. 32 (1966), 468
110. Souci, S.W., W. Fachmann und H. Kraut:
Die Zusammensetzung der Lebensmittel. - Nährwert-Tabellen.
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1973
111. Steinegger, E., und R. Hänsel:
Lehrbuch der Pharmakognosie.
3. Aufl.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1972
112. Szakaly, M.:
Reaktionen des Myoglobins in Modell-Lösungen und im Fleisch.
Z. Tierzucht Züchtungsbiol. 82 (1966), 265
113. Tändler, K., und G. Heinz:
Frischfleischreifung im Vakuumbeutel.
I. Mitteilung.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1185
114. Tändler, K., und G. Heinz:
Frischfleischreifung im Vakuumbeutel.
II. Mitteilung.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1371
115. Taylor, A.McM., und C.L. Walters:
Biochemical properties of pork muscle in relation to
curing. Part II.
J. Food Sci. 32 (1967), 261
116. Terplan, G.:
Biologische, chemische und physikalische Vorgänge bei der
Herstellung von gepökelten und gereiften Fleischwaren.
Habilitationsschrift an der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München.
Verlag G. Röttger, München 1969

117. Terracini, B., P.N. Magee und J.M. Barnes:
Hepatic pathology in rats on low dietary levels of
dimethylnitrosamine.
Brit. J. Cancer 21 (1967), 559
118. Thomas, F.:
Blood dye for sausages.
West German Patent Application 20008 951 (1971), (DE)
119. Toth, L.:
Cancerogene Stoffe in geräucherten Fleischwaren.
Fleischwirtschaft 49 (1969), 1611
120. Wagner, G.:
Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie.
2. Aufl.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1970
121. Walsh, K.A., und R. Dyson:
Factors affecting the oxidation of nitric oxide myoglobin.
J. Agric. Food Chem. 4 (1956), 352
122. Wieland, G.:
Wir machen das so.
Richard Pflaum Verlag, München
123. Wirth, F.:
Welche Konsequenzen hätte ein Verbot oder eine Redu-
zierung des Zusatzes von Nitrit und Nitritpökelsalz zu
Fleischerzeugnissen? Aus technologischer Sicht.
Fleischwirtschaft 53 (1973), 363
124. Wirth, F.:
16. DLG-Qualitätsprüfung für Fleischwaren und Feinkost-
erzeugnisse 1972 - Kochwürste.
Fleischwirtschaft 53 (1973), 930
125. Zimmermann, G.L., und H.E. Snyder:
Meat pigment changes in intact beef samples.
J. Food Sci. 34 (1969), 258

126. Zukał, E., und R. Hamm:

Ein neues Verfahren zur Bestimmung des Verhältnisses von
Metmyoglobin zu Gesamtmyoglobin in Lösungen.

Fleischwirtschaft 48 (1968), 185

Lebenslauf

Am 8. Dezember 1942 wurde ich in Kibweta (Zaire) geboren. Von 1950 bis 1956 besuchte ich die evangelische Missions-
schule von Sona-Bata. 1957 wechselte ich auf das Gymnasium
"Athenee de Ngiri-Ngiri" über; ab 1960 war ich Schüler des
Gymnasiums "Athenee de Kalina" in Kinshasa, wo ich 1964 die
Reifeprüfung bestand. Anschließend arbeitete ich ein Jahr
als Lehrer im "Service de l'Enseignement de la ville de
Kinshasa". Nach einem fünfmonatigen Sprachkursus im Jugend-
dorf von Oberaden (Bergkamen) studierte ich bis zum 1. klini-
schen Semester an der Tierärztlichen Hochschule Hannover und
ab 1969 an der Ludwig-Maximilians-Universität München Tier-
medizin, wo ich im Oktober 1971 die Tierärztliche Prüfung
bestand. Von 1972 bis 1974 war ich mit der Anfertigung der
Dissertationsarbeit beschäftigt. 1974 besuchte ich das
Seminar für Tropenveterinärmedizin an der Freien Universität
Berlin.

Am Ende meiner Arbeit möchte ich
Herrn Professor Dr. Dr.h.c. L. Kotter
für die Überlassung des Themas sowie
Herrn Dr. A. Fischer für die Betreuung
ganz herzlich danken.

